Vol. IV Febbraio 1932 - A. X Fasc. II

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

LISTE DES ECHANGES ETRANGÈRES

Acta Leidensia (Leiden).
Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica (Copenhagen).
Acta Societatis Botanicorum Poloniae (Varsovie).
Anales de la Escuela de Veterinaria de l'Uruguay.
Annales de l'Institut Pasteur (Paris).
Archives Roumaines de Pathologie Experimentale (Paris).
Archives des Sciences Biologiques (en Rousse).
Archives de Biologia (Cambucy).
Arquives de Patologia (Lisboa).
Australian Veterinary Journal (Sydney).
Biological Bulletin (Lancaster).
Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan (Tokyo).
Buletin Eugenic si Biopolitic (Clij).
Bulletin of the New York Academy of Medicine (New York).
Bulletin Office International d'Hygiène Publique (Paris).
Bulletin de la Société des Naturalistes de Veroneje (Veroneje).
Bulletins de la Société de Pathologie Exotique (Paris).
El Dia Medico (Buenos Ayres).
Journal of the American Medical Association (Chicago).
Journal of the Japanese Society of Veterinary Science (Tokyo).
Marseille Médical (Maseille).
Medicina de los Paises Calidos (Madrid).
Memorias do Instituto Butantan (Sao Paulo).
Memorias do Instituto Osvaldo Cruz (Rio de Janeiro).
Münchener Tierärztliche Wochenschrift (München).
New York State Agricoltural Experimental Station (Geneva).
Review of Applied Mycology (Kew).
Revista de Higiene y de Tuberculosis (Valencia).
Revista Sud Americana de Endocrinologia y Immunologia (Buenos Ayres).
Revue Bulgare d'Hygiène.
Revue d'Hygiène (Paris).
Pregled (Belgrado).
Semana Medica (Buenos Ayres).
Skandinavisk Veterinartidskrift (Stockholm).
Studies of Tokugawa Institute (Tokyo).
Veterinary Record (London).
Zeitschrift für Pilzkund (Darmstadt).

DENES G. – **Sur le résultat de l'examen bactériologique dans les angines pseudomembraneuses.**

Quand l'examen bactériologique pratiqué moyennant nos méthodes culturales désormais standardisées (sérum solidifié et milieu Pergola au Sérum-Oeuf-Tellurite) démontre la présence du b. de Klebs-Loeffler du type « normo-clinique » et l'affection prend, au point de vue clinique, l'aspect caractéristique de l'angine pseudo-membraneuse, les deux résultats se complètent et la tâche du médecin est considérablement facilitée.

Pour expliquer la *valeur négative* de l'examen bactériologique — ce qui arrive lorsque le résultat de l'examen clinique et celui des examens bactérioscopique et cultural ne se correspondent pas — nous avons avancé deux hypothèses.

1° La corynébactérie diptérique n'a *pas encore* atteint son aspect morphologique *clinique*.

2° La corynébactérie dipthérique a perdu ses propriétés *morphologiques* et *biochimiques*, qui sont caractéristiques pour le b. de Klebs-Loeffler.

On a déjà discuté beaucoup, pour le passé, à propos des variations morphologiques du b. de Loffler. Celui-ci peut se présenter non seulement sous la forme d'un court bâtonnet, ayant une longueur moyenne ou supérieure à la moyenne, ramifié ou en massue, homogène ou granuleux, avec des granulations disposées aux pôles ou bien dans le corps bactérique, mais il peut aussi donner origine à des formes cocciques et diplococciques peux toxiques ou avirulentes, ainsi que MM. Mellon et Heinemann l'ont démontré en 1917. Ces formes cocciques représenteraient une véritable *variation*, une *phase* non virulente du b. dipthérique.

Mais aussi l'*activité biochimique* du germe est assujettie à de profondes modifications ou, pour mieux dire, à variations. Le b. diphtérique dans sa phase « *normo-clinique* » est virulent; la toxine qui se forme dans le bouillon glucosé provoque la mort du cobaye lorsque l'animal a été soumis à l'injection par la voie sous-cutanée, ou, s'il a été injecté dans le derme, on voit se produire un oedème et une nécrose locale. Le bouillon glucosé est acidifié par le « *normotype* »; il se forme, sur sa surface, une pellicule très mince et fragile, et le liquide cultural demeure limpide. Lors de sa coloration au Gram, le b. diphtérique virulent (Langer-Krueger, Pecori, Petriccioni Masci) se décolore après un traitement de 15'-20' moyennant l'acool absolu. Nous avons observé constamment que les frottis traités pendant 30 minutes, au moyen de l'alcool au 33%, se décolorent.

Lorsqu'il se trouve dans la *phase non virulente*, le b. diphtérique n'est pas pathogène pour le cobaye.

Il pousse en troublant uniformement le bouillon glucosé et, ensuite, il forme une cuticule superficielle, il alcalinise le milieu et se montre nettement Gram-résistant. Si le b. diphtérique non virulent est traité pendant 30 minutes, moyennant l'alcool au 33%, il devient parfaitement coloré par le violet de gentiane phéniqué.

De tout ce que nous avons exposé jusqu'ici, on peut déduire que le b. diphtérique, analogiquement aux autres microrganismes, présente lui-aussi le phénomène de la dissociation.

Le b. de Hoffmann et les différents b. pseudo-diphtériques représentent la variation extrême, non virulente, du b. diphtérique.

Or, si dans le cas d'une angine pseudo-membraneuse cliniquement benigne, nos examens bactériologiques mettent en évidence la présence de forme cocciques ou diplococciques, pouvons nous nous demander si ces dernières ne représentent éventuellement pas de véritables bacilles diphtériques modifiés? En d'autres mots, les b. diphtériques *modifiés* (pour employer le mot de M. Pergola) peuvent-ils déterminer des angines bénignes au point de vue clinique?

C'est précisément notre avis. Des angines bénignes et de fausses membranes peuvent être déterminées par des formes cocciques ou diplococciques, hypovirulentes ou non virulentes, qui représentent des variations extrêmes, peu pathogènes, du b. diphtérique. C'est à cause de la coexistance de ces deux formes, de ces deux variantes du b. diphtérique, qu'il se produit *in vivo*, aussi bien que dans la culture, une dissociation vers une variante extrême excessivement virulente, ou considérablement atténuée.

Laboratoire d'Hygiène et de Prophylaxie
de la Province de Padoue.

DI GERONIMO G. – **Sur la valeur diagnostique, dans la tuberculose poulmonaire, de la réaction de la déviation du complément, à l'aide d'une nouvelle technique (102 cas étudiés).**

M. Capuani, en utilisant les différentes techniques proposées jadis pour la *lues* (Hecht (1), Muttermilck (2), Waltis (3), Kabelick (4), Cernogubow (5)) et en supprimant quelques détails, ou en en ajoutant quelques uns afin d'éliminer tout animal pour rendre accessible la réaction même au praticien, est parvenu à se servir d'une technique simplifiée pour la recherche des anticorps tuberculeux.

Voici la nouvelle technique:

Eléments pour la réaction.

1) Sérum à examiner: il doit être frais (s'il a séjourné à la glacière on peut l'employer même après 48 heures de son prélèvement); il en faut 1 cmc. 20.

2) Antigène métilique Boquet-Nègre (Institut Pasteur): On laisse tomber dans 2 cmc. de solution physiologique, 0,10 cmc. de cet antigène; on agite bien en ajoutant encore 2 cmc. de solution physiologique. On ne peut pas employer l'antigène métilique officinal.

3) Sérum hémolitique anti-homme: On peut l'acheter chez les Instituts de Sérologie; on peut même le préparer en injectant un lapin par la voie sous-cutanée ou intraveineuse, moyennant 2 cmc. de globules rouges humains; l'injection doit être pratiquée quatre fois avec l'intervalle d'une semaine.

4) Globules rouges humains: On détache d'un échantillon de sang prélevé d'un sujet — n'importe si sain ou malade — le sérum, à l'aide de la centrifugation; après avoir décanté le sérum et avoir mis le coagulum dans une grosse éprouvette, on y ajoute 2 ou 3 volumes de solution physiologique et l'on agite énergiquement l'éprouvette. Après cela on filtre le tout et ensuite l'on centrifuge le filtrat pour trois fois, jusqu'à ce que l'on obtient dans l'éprouvette une nette séparation entre les globules et la solution physiologique. Pour la réaction on employe les globules au 2%, en solution chloro-sodique.

Exécution de la réaction.

On place dans un support six petites éprouvettes du type qu'on employe pour la réaction de Widal; on introduit dans chaque éprouvette 0, cmc. 20 de sérum et l'on ajoute dans les trois premières éprouvettes 0, cmc. 40 de solution physiologique et dans les trois autres 0, cmc. 40 de diluition de l'antigène. On agite les éprouvettes, qu'ensuite l'on fait séjourner à la glacière pendant 15 heures environ. Après cela on place dans le thermostate à 37° le support avec les éprouvettes, pour 45 minutes; on prépare entretemps la diluition du sérum hémolytique et celle des hématies. Le sérum hémolytique doit être délayé jusqu'à ce que 0, cmc. 10 de la diluition renferment une unité hémolytique. Ensuite les éprouvettes enlevées du thermostate, sont additionnées de la diluition au 2% des hématies, dans le volume suivant: cmc. 0,30 dans la première et dans la quatrième éprouvette; cmc. 0,60 dans la deuxième et dans la cinquième; cmc. 0,90 dans la troisième et dans la sixième. Après avoir agité le tout,

on place à nouveau le support dans le thermostate à 37°, en observant la démarche de la réaction de 5 en 5 minutes. Aussitôt l'hémolyse est complète dans les trois premières éprouvettes, ou bien quand, en étant incomplète, elle n'avance pas dans un intervalle de 5 minutes, on fait la lecture définitive de la réaction. Si dans la quatrième, cinquième et sixième éprouvette l'hémolyse s'est réalisée, la réaction est négative; si, au contraire, elle ne s'est pas produite, la réaction est positive.

Le degré de positivité est exprimé par un nombre de signes + qui corresponde au reste qu'on obtient en soustrayant le nombre des éprouvettes qui présentent l'inhibition et qui appartiennent au deuxième groupe, du nombre des éprouvettes du premier groupe. En prolongeant le séjour des tubes à l'étuve, l'hémolyse se produit même dans les éprouvettes dans lesquelles elle avait été auparavant empêchée.

Lecture de quelques possibles résultats: (H = Hémolyse; I = Inhibition):

	1	2	3	4	5	6	Interprétation des résultats
a	H	H	H	I	I	I	réaction positive +++
b	H	H	I	I	I	I	» » ++
c	H	H	H	H	I	I	» » ++
d	H	H	I	H	I	I	» » +
e	H	H	H	H	H	I	» » +
f	H	I	I	I	I	I	» » + index hémolytique faible
g	H	H	H	H	H	H	» négative (la réaction est negative lorsqu'il y a une identité entre les éprouvettes respectives des deux ordres)
h	3	1	1	3	1	1	» négative (index hémolytique faible)
i	1	1	1	1	1	1	» nulle, à cause de: 1) pouvoir anticomplémentaire du sérum; 2) insuffisance de sérum hémolytique; pouvoir complémentaire du sérum très modique; 3) substances exogènes inhibitoires (alcalis ou acides dans les verreries ou dans l'eau)

L'A. a expérimenté cette réaction en quelque centaine de cas dont la moitié environ a été soumise à cette expérience parallèlement à celle de Neuberg-Klopstock. Les résultats ont été concordants; on a mis en évidence une plus grande sensibilité du procédé dans lequel on utilisait le sérum frais non inactivé. La réaction ne se montre pas très utile dans les phases initiales de l'affection, et dans les phases terminales (anergie) elle est facilement négative. « Dans ma réaction — dit M. Capuani — il persiste encore un inconvénient: c'est-à-dire que les sérum luétiques donnent des réactions positives. Même ici, autant que dans toute recherche de laboratoire, la clinique manifeste toute sa supériorité. Celui qui veut

se garantir contre cet inconvénient doit ajouter trois autres éprouvettes, dans lesquelles il faudra mettre tous les éléments qui se trouvent dans les éprouvettes N. 4, 5 et 6, en employant l'antigène luétique au lieu de l'antigène tuberculeux ».

*
* *

Etant donné la simplicité de la technique, j'ai voulu, suivant le conseil de mon Directeur, pratiquer 102 séro-réactions moyennant la méthode de M. Capuani.

Pour ce qui en est aux éléments de la réaction et à la technique employée j'ai suivi le conseil de l'A. Il y a eu une seule différence entre la technique de M. Capuani et la notre, et précisément pour ce qui se rapporte au système hémolytique, car nous avons utilisé les hématies de mouton que nous pouvions nous procurer facilement et le sérum hémolytique était le sérum liquide anti-mouton de l'Institut Sérothérapique de Milan, au titrage de 1 : 1000, que nous avons employé à une diluition dix fois plus basse. Ce système hémolytique est conseillé même par M. Capuani lorsq'on peut avoir à disposition des animaux de stabulation.

Eléments de la réaction	lére Série d'éprouvettes			2éme Série d'éprouvettes		
	1ère	2ème	3ème	4ème	5ème	6ème
1er TEMPS						
Sérum à examiner, non inactivé	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Solution physiologique	0.40	0.40	0.40	—	—	—
Diluition de l'antigène	—	—	—	0.40	0.40	0.40
Dans la glacière pendant 15 heures, puis à l'étuve à 37° pendant une heure.						
2nd TEMPS.						
Sérum hémolytique anti-mouton (1 cmc.) titrage 1:1000 en 100 cmc. de solution physiologique	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Globules rouges de mouton 2:100	0.30	0.60	0.90	0.30	0.60	0.90
À l'étuve a 37°; lecture tous les cinq minutes.						

Dans les 102 séro-réactions pratiquées il s'agissait:

a) en 60 cas, de broncho-pneumonie ulcéreuse;
b) en 27 cas, de broncho-pneumonie fibreuse (forme infiltrante);
c) en 5 cas, de pleuro-pneumonie;
d) en 5 cas, de tuberculose glandulaire de l'hile;
e) en 3 cas, d'insuffisance respiratoire;
f) en 2 cas, de sujets sains.

Les résultats de la réaction, dans les 97 cas de tuberculeux examinés, ont été les suivants: N. 79 positifs; N. 12 négatifs; N. 6 nuls.

Des 79 cas positifs: 51 étaient positifs avec +; 25 avec ++; avec +++.

Des 51 cas positifs avec +: 37 étaient atteints de tuberculose pulmonaire ulcéreuse; 12 de broncho-pneumonie fibreuse; 1 de tuberculose hilaire; 1 de pleuro-pneumonie.

Des 25 cas positifs avec ++: 13 étaient frappés par une tuberculose pulmonaire ulcéreuse; 10 par une broncho-pneumonie fibreuse; 1 par une pleuro-pneumonie; et 1 par la tuberculose de l'hile.

Dans les 3 cas positifs avec +++ il s'agissait d'une tuberculose cavitaire.

Des 12 cas négatifs: 4 étaient des ulcéreux; 5 étaient atteints de broncho-pneumonie fibreuse; 2 de pleuro-pneumonie; 1 de tbc. glandulaire de l'hile.

Des 6 cas nuls: 3 étaient des ulcéreux; 2 étaient frappés par une tuberculose de l'hile; un par une pleuro-pneumonie.

Des 5 cas témoins: 3 se sont démontré négatifs; parmi ces derniers, 2 étaient des sujets sains et le troisième était atteint d'une insuffisance respiratoire par sténose des voies aériennes supérieures; le diagnostic de ce patient a été identique pour les deux autres cas qui ont résulté nuls.

En conclusion: des données statistiques que nous avons obtenu des résultats susmentionnés, nous pouvons affirmer que dans les 97 cas de tuberculose pulmonaire examinés, le séro-diagnostic Capuani a été: positif dans l'80,50%; négatif dans le 12,50%; douteux dans le 7%. Quant au pourcentage par rapport à la forme morbide, nous avons pu déduire les données suivantes: dans la forme ulcéreuse: positifs = 88,33%; négatifs = 6,66%; douteux 5%. Dans la forme fibreuse: positifs = 81,50%; négatifs = 18,50%. Dans le forme pleuro-pulmonaire: positifs = 40%; négatifs = 40%; nuls = 20%. Dans la forme pleuro-pulmonaire: positifs = 40=; négatifs = 20%; nuls = 40%.

Avant de passer à des conclusions définitives, nous allons rapporter ici quelques observations particulières: 1) La lecture des résultats, pendant les premières 10 minutes de séjour au thermostate, a été presque toujours inutile; la réaction commence à se produire toujours vers le premier quart d'heure. 2) Les réactions qui devenaient nettement positives se produisaient bientôt; les autres, dans lesquelles il y avait de l'inhibition dès la première demi-heure, se produisaient bien plus tard; dans quelques réactions séulement l'inhibition de la première heure a cédé à l'hémolyse même au bout de 13 heures. 3) Le fait que dans les cas négatifs chez les tuberculeux pulmonaires manifestes le sujet est anergique, n'a pas été confirmé, car autant la v. Pirquet que l'épidermo-

réaction de Mazzetti ont été, chez ces patients, nettement positives. 4) La séro-réaction dont nous nous sommes occupés n'a pas de valeur prognostique. 5) La réaction donne un pourcentage de positivité plus élevé dans les formes avancées que dans les formes initiales, quoique, même pour ces dernières, son utilité soit évidente.

Enfin, en concluant, nous pouvons affirmer que le séro-diagnostic de la tuberculose pulmonaire, à l'aide de la méthode de M. Capuani, tout en n'ayant pas une valeur probative absolue pour le diagnostic de la maladie, mérite d'être compris parmi les communes méthodes d'investigation clinico-radiologique et de laboratoire dans les cas d'infection tuberculeuse suspecte, en vue de sa simplicité qui est de beaucoup plus grande que celle de toute autre méthode.

RÉSUMÉ. – L'A., après avoir touché aux différentes réactions pratiquées jusqu'à présent pour la déviation du complément dans la tuberculose, a relaté à propos de la nouvelle méthode pour la recherche des anticorps tuberculeux, dans le sérum de sang non activé, méthode préconisée par M. Capuani. Etant donné la facilité et la simplicité de la réaction, l'A. a voulu l'essayer chez 102 sujets; en 97 cas de tuberculose pulmonaire il a obtenu l'80,50% de réactions positives; le 12,50% a été négatif; le 7% nul. Les autres 5 cas où il s'agissait de sujets sains n'ont pas ôté de la valeur à la réaction.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) HECHT, « Annales de l'Institut Pasteur, Mars 1928.
(2) MUTTERMILK, « Comptes R. Soc. Biol. », 1922, T. 86, N. 14.
(3) WALTIS, « Annales de l'Inst. Pasteur », Mai 1925.
(4) KABELIK, « The Journ. of Immunologie », Déc. 1926.
(5) CERNOGUBOW, « Berl. Klin. Wochenschr. », 1908, pag. 2017.
(6) CAPUANI, « Riv. di Patol. e Clin. della Tubercolosi », 1929, N. 6, pag. 476.

MORI N. – **Expériments d'isopathinoprophylaxie du barbon des buffles (septicémie hémorragique des buffles).**

Le barbon des buffles est une maladie infectieuse enzootique qui frappe les jeunes buffles et produit une mortalité qu'en général, est environ du 40-50%, mais peut monter, au cours de certaines années et chez certains élevages, jusqu'au 90-100%.

Cette maladie est presqu'incurable et l'on a tâché de la prévenir en se servant de vaccins ou de séro-vaccins préparés de différentes façons: mais les résultats n'ont eu aucun succès pratique. Par conséquent nos éleveurs, après avoir vu un grand nombre d'essais de prophylaxie spècifique de cette maladie mortelle qui ont toujours été presqu'inutiles,

sont devenus sceptiques quant à la possibilité de trouver un moyen pour la combattre avec succès, et l'attendent chaque année avec résignation, en souhaitant de n'avoir que des pertes légères. En outre plusieurs éleveurs de la Campanie, pour sortir au plus tôt de cette obsession, provoquent la maladie avec du matériel pathologique spécifique. Cette pratique produit presque toujours une mortalité supérieure à celle due à la maladie naturelle.

Les jeunes buffles qui ne sont point destinés à l'élevage, sont éliminés le plus tôt possible, à peine sevrés, et vendus pour l'abattoir. On ne conserve pour l'élevage que les jeunes animaux qui ont survécu à l'infection du barbon, car ils gardent l'immunité pour toute l'existence, à part quelques exceptions.

On se rend compte facilement que si cette florissante industrie zootechnique — qui chez nous est répandue surtout dans la région dite « Terra di Lavoro », dans les provinces de Salerno et de Rome, dans la Pouille, et en Sardaigne — n'avait point à souffrir du barbon des buffles elle pourrait presque doubler son rendement de laitages (très appréciés), de viande et de travail.

Ces considérations, et la « Bataille Zootechnique » voulue par S. E. le Chef du Gouvernement, m'ont poussé à porter ma modeste contribution a la lutte contre le barbon des buffles en continuant les expériences de prophylaxie isopathinique faites en 1917, et dont les résultats (1) ont été déjà publiés.

En 1930 et en 1931, avec l'autorisation et le concours de la Direction Générale de la Santé du Ministère de l'Intérieur, j'ai donc procédé à différents expériences chez des élevages de buffles dans les provinces de Naples et de Salerno, pour compléter celles de 1917.

Pour tout ce qui se rapporte à la façon de préparer les isopathines et à leur nature, il faut consulter mon mémoire d'ensemble publiée en 1929 (2); je rappellerai ici que pour la préparation de l'Isopathine antibarbonique je me suis servi pour les expériences de 1917 comme pour celles de 1930 de l'exudat prélevé des oedèmes spécifiques des jeunes buffles morts de barbon naturel. En 1931, au contraire, pour rendre la méthode plus pratique et pour pouvoir l'appliquer sur une échelle plus vaste, j'ai essayé avec succès la production d'exsudat spécifique sur des buffles, en leur injectant par différentes voies et en doses différentes, des cultures préparées sur plusieurs terrains du germe spécifique, pour tâcher d'obtenir la plus forte quantité possible du matériel pathologique utile.

Les résultats obtenus par ces expériences pratiques d'isopathinoprophylaxie, dans dix élevages différents, ont été très satisfaisants.

En 1931 la méthode, améliorée par les études expérimentales précédentes faites chez six élevages, a permis de recueillir les données comparatives suivantes:

1° Sur un total de 360 jeunes buffles, traités une seule fois avec l'isopathine anti-barbonique dans la dose de 10 cc. par voie sous-cutanée, on eut une mortalité moyenne produite par le barbon du 1,34% (pour deux élevages elle fut du 0%).

2° Sur un total de 292 témoins (contrôles) la mortalité moyenne produite par le barbon fut au contraire du 35.26%.

Ces bons résultats ne se différencient presque pas de ceux obtenus par les expériences de 1917 avec des doses proportionnées. On avait en effet obtenu, avec des doses de 10-15 cc. d'isopathine anti-barbonique sur un total de 55 buffles appartenants à deux élevages, une mortalité moyenne, due au barbon naturel, du 0%; sur un total de 48 témoins la mortalité moyenne due au barbon arriva au 34.49%.

Les jeunes buffles de deux troupeaux, traités en 1930 avec l'isopathine et qui survécurent ensuite au barbon naturel, ont résisté, en 1931, au milieu d'un ambiant fortement infecté par le barbon, sans présenter des phénomènes appréciables de la maladie. Ces faits font penser qu'il est vraisemblable que les animaux conservent l'immunité pour toute la vie, comme on l'observe chez les jeunes buffles non traités et qui échappent à la mort après la première infection. En tous cas on pourra donner un jugement définitif sur la durée de l'immunité pour les buffles traités avec l'isopathine, lorsqu'un nombre d'année correspondant à leur vie économique se sera écoulé, pendant lesquels on tiendra constamment en observation les animaux.

Je me réserve de traiter plus tard cette question et les autres problèmes que j'ai étudié et qui sont résumés ci-dessous; quel parti pourrait-on tirer de l'emploi de l'isopathine anti-barbonique dans un milieu infecté et comme moyen curatif dans les cas où une intervention utile est possible: si l'on peut obtenir des résultats pratiques satisfaisants en se servant de l'isopathine par voie intrademique, au lieu de la voie sous-cutanée; si le sang et certain viscères outre l'exudat des oedèmes spécifiques peuvent servir pour la préparation de l'isopathine anti-barbonique. Je vais relater en suite les résultats d'autres études expérimentales dont je m'occupe présentement. Mais il me semble de pouvoir résumer les expériences conduites jusqu'à aujourd'hui, dans les conclusions suivantes:

1° Par le moyen de l'isopathine anti-barbonique inoculée, par voie sous-cutanée, une seule fois dans la dose de 10 cc. il est possible préserver presque tous les jeunes buffles traités de la première infection du barbon soit naturel, soit produit par des conditions très proches de celles naturelles: mais il faut exposer les animaux traités à l'infection pendant la première quinzaine après le traitement isopathinique.

2° Il est très problable que l'immunité donnée par l'isopathine

anti-barbonique, renforcée par le premier contact avec l'infection, soit naturelle soit produite par des conditions très semblables à celles naturelles, se conserve pour toute la vie.

3° Pour la préparation de l'isopathine anti-barbonique il n'est pas nécessaire de se servir de l'exsudat spécifique prélevé aux jeunes buffles morts de maladie naturelle, car l'exsudat obtenu des buffles morts par l'action de cultures du germe spécifique a démontré d'avoir la même efficacité.

4° La production de l'isopathine anti-barbonique, d'après du matèriel pathologique recueilli sur des buffles injectés avec des cultures du germe spécifique, peut être obtenue économiquement en des conditions qui permettent d'employer ce produit sur une grande échelle.

Il me semble aussi que l'on peut fonder, sur les données expérimentales obtenues, une méthode prophylactique efficace contre le barbon des buffles. Cette méthode se réalise par l'inoculation d'une isopathine anti-barbonique pratiquée chez les buffles que l'on veut préserver; après quoi on les expose, au bout de 5-15 jours, à l'infection du barbon si elle ne s'est pas manifestée avant; infection que l'on provoquera à l'aide de matériel pathologique spécifique, ainsi que le font les éleveurs de la Campanie.

J'esposerai prochainement, d'une façon plus détaillée, ce que j'ai résumé dans cette communication, en y ajoutant les résultats des expériences qu'on est encore en train de conduire.

RÉSUMÉ. — L'A. a obtenu des résultats très satisfaisants au cours d'expériences de prophylaxie spécifique du barbon des buffles (Septicémie hémorragique des buffles) en se servant de l'Isopathine anti-barbonique, qui est un produit immunitaire spécifique-aspécifique qu'il a obtenu par la désintégration du matériel de cette infection.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) MORI N., *Risultati di alcuni esperimenti di prevenzione e di cura del Barbone Bufalino mediante un particolare siero estratto dall'essudato degli edemi specifici* (« Annali della Stazione Sperimentale per le malattie infettive del bestiame », Vol. V, fasc. I, 1918).

(2) MORI N., *Le Isopatine* (« Annali Italiani di Chirurgia », Vol. VIII, fasc. IX, 1929); (« La Nuova Veterinaria », anno VII, N. 11-12, 1929).

Consulter aussi à propos des isopathines:

GRISOLIA A., *Contributo alla isopatinoterapia ed alla isopatinoprofilassi della pleuro-polmonite essudativa delle capre*, « Profilassi », Vol. VIII, fasc. IV, 1930).

MORI N., *L'isopatinoterapia del Cancro.* Communication au « II Convegno nazionale della Lega Italiana per la lotta contro il Cancro », (« Atti del Convegno », Stabilimenti Poligrafici Riuniti, Bologna, 1931).

MORI N., *Expériences sur l'isopathinothérapie du Farcin cryptococcique des chevaux* (« Boll. Sez. Ital. Società Internaz. di Microbiologia », fasc. V, 1931).

MORI N., *A propos d'une expérience d'isopathinothérapie de la Pyroplasmose équine*, (« Boll. Sez. Ital. Società Internaz. di Microbiologia, fasc. VI, 1931).

MORI N., *Esperimenti d'isopatinoterapia dell'Influenza toracica del cavallo* (« Profilassi », Vol. IV, fasc. V, 1931).

PETRAGNANI G. — **L'anatubercoline.**

Le 25 juin 1926 j'ai fait une communication à la R. Ac. des Physiocritiques de Sienne, au sujet *de la préparation d'un vaccin tuberculaire avec des bacilles tués au formol.* Je présentai donc à ces Académiciens quelques ampules de ce produit, en faisant observer, qu'en laissant demeurer celles-ci, dans un lieu tranquille elles résultaient d'un liquide diaphane, légèrement opalin, et avec un sédiment blanchâtre. Je dis, que cette partie liquide et diaphane sans corps bacillaires, pouvait très bien servir comme de la « tuberculine (diagnostique) » tandis qu'en agitant jusqu'à rendre homogène le sédiment bacillaire dans la partie liquide, on pouvait obtenir un vaccin présumablement utile pour la thérapie et la prophylaxie (Voir: Atti R. Acc. Fisiocritici di Siena, 1926).

Ayant accompli d'autres recherches, le 6 juin 1927, je fis parvenir à la rédaction du Bollettino dell'Istituto Sieroterapico Milanese, la note au sujet de l'« Anatuberculine » (vaccin formol-tuberculaire) qui parut dans le Fasc. 4; août 1927. Par cette note je décrivais minutieusement la composition et les propriétés antigènes sur le cobaye normal et tuberculeux, de l'*Anatubercoline.*

Depuis ce moment j'ai poursuivi sans interruption mes recherches sur les animaux de laboratoire, pour mieux connaître les qualités de ce vaccin, soit comme prophylactique que comme curatif. Les résultats, bien que rencontrant les graves difficultés que dans un tel champ trouve quiconque veut faire des essais sur de communs animaux de laboratoire, sont pourtant réellement satisfaisants.

Les récentes recherches de M. S. Vanni: « *La production d'hémolysines chez des animaux infectés par des bacilles tuberculeux et chez des animaux vaccinés avec de l'anatuberculine* » (Atti R. Acc. Fisiocritici in Siena — Séance du 26–6–1931 — Boll. Ist. Sieroterapico Milanese, Fasc. 10, 1931), et de M. G. Mazzetti: « *L'emploi de l'anatuberculine comme antigène dans la déviation du complément pour le diagnostic de l'infection tuberculeuse* » (Atti R. Acc. Fisiocritici in Siena — Séance du 31–7–1931) sont très démonstratives pour confirmer l'excellente valeur antigène de cette « *anatuberculine* ».

Etant tout à fait convaincu des excellentes qualités antigènes, du peu de toxicité et de la stabilité de ce produit, en comparaison des vieilles tuberculines, j'en ai livré, depuis quelque temps, des échantillons à des sanitaires distingués, avec les instructions voulues pour la thérapie, pour la prophylaxie et pour le diagnostic. Pour ce qui se rapporte aux résultats au point de vue de la thérapie et de la prophylaxie, étant donné la complexité du problème, les recherches ne sont pas encore ainsi nombreuses

pour me permettre un jugement sérieux et, en tout cas, j'attends qu'à ce sujet puissent référer d'abord les collègues cliniciens. Par contre, à propos de l'*anatuberculine* dans *le diagnostic*, les essais qui ont été faits jusqu'à aujourd'hui, ont donné tous des résultats vraiment satisfaisants, qui méritent d'être signalés: S. Gloris: « *L'anatuberculine dans le diagnostic et dans la thérapie* » (Riv. di Patol. e Clin. della Tubercolosi. Fasc. I, 1928); M. Cotellessa: « *L'anatuberculine pour la recherche de l'état allergique de l'enfant* » (Riv. di Patol. e Clin. della Tubercolosi. Fasc. VII, 1929), résultats auxquels s'ajoutent les recherches récentes et nombreuses faites par M. Bettinardi, chez la Clinique Pédiatrique de Sienne; ces dernières sont en cours de publication et elles confirment l'excellente valeur antigène de l'anatuberculine, même après plusieurs années de conservation à la température ambiante.

La démonstration d'une telle propriété antigène dans la fraction dissoute de l'anatuberculine, trouve sa justification scientifique la plus complète en des anciennes et nouvelles recherches qui tombent toutes d'accord pour démontrer la valeur antigène et biologique des partigènes qu'on peut extraire du bacille de Koch.

A partir des anciennes recherches d'Auclair, de Paris, et de Ruppel, jusqu'à celles plus récentes d'Anderson et de ses collaborateurs, de MM. Johnson, Coghill et Brown, il nous résulte comment les fractions protéiques extraites du corps bacillaire à l'aide de l'eau pure, ou moyennant une solution de NaCl et des solutions alcalines, possédent une valeur antigène excellente ainsi qu'une toxicité remarquable.

Le fait d'avoir donc pensé d'employer comme tuberculine, pour les réactions diagnostiques, depuis le début de mes recherches, la partie hydro-et alcali-soluble rendue non toxique par le formol, dans les bornes les plus larges possibles (car on connait bien la différente profondité d'action du formol sur d'autres poisons bactériques qui ne soient pas de véritables toxines), considéré aujourdh'ui à la lumière de ces récentes recherches, encouragées par le « Research Comittee of National Tuberculosis Association of U.S.A. » des 1927 à 1930, résulte rationnel et promettant pour les résultats pratiques. Et même encore le fait d'avoir gardé à la *tuberculine thérapeutique et prophylactique* les corps bacillaires résiduels, contenant des polysaccharides, des phosphatides, des cires auxquels appartient également l'action tubercoligène spécifique, outre qu'au résultat confortable de nos recherches, trouve dans l'existence de ces dernières substances l'appui le plus solide. Quant à la possibilité d'extraire facilement des corps bacillaires de partigènes à haute valeur antigène pour les réactions diagnostiques, M. Finzi a donné, en ces derniéres années, une ample démonstration par ses recherches sur l'*anaesotuberculine.*

En analogie avec Denys, qui depuis longtemps prépare une tuberculine moyennant le filtré sur bougies poreuses, des cultures du bacille de Koch dans du bouillon glycériné, M. Finzi a recherché et démontré plus simplement la valeur antigène du bouillon de culture prélevé au-dessous de la membrane de bacilles de Koch, après 6-8 semaines de développement dans l'étuve. M.M. Long et Seibert, à leur tour, ont confirmé qu'aux liquides culturaux appartient une propriété antigène spécifique; en effet, ces AA., utilisant le filtré de culture du bacille de Koch sur le milieu synthétique de Long, identifièrent une proteïne hydro-soluble, non dialysable et incoagulable, ayant une particulière valeur antigène.

Au contraire, ce qui, dans les études de M. Finzi contraste avec les autres connaissances acquises, c'est le nom de « *anaésotuberculine* » qu'il voulut donner au bouillon de culture prélevé au-dessous de la membrane bactérique et livré, pour l'emploi, une heure seulement après y avoir ajouté du formol au 2 pour mille. En vue de ce peu de temps que l'A. laisse intercourir après l'addition du formol, on est autorisé à douter de l'atténuation de la fraction toxique, ainsi qu'on n'arrive pas bien à comprendre pourquoi a-t-il estimé bon d'introduire le nom « *anaésotuberculine* » quand j'avais déjá introduit celui de « *anatuberculine* ». Outre qu'aux récentes recherches de Maschmann et Kuster, qui isolèrent dans un filtré de culture de huits semaines de développement sur Sauton, une substance thermostabile et acidostabile, dialysable, *spécifiquement active*, et qu'ils attribuent à une diffusion du corps des bacilles morts, il y a les récentes recherches très intéressantes du même M. Finzi, qui ont démontré clairement la prépondérante origine endocellulaire des partigènes à action antigène dans la même « *anaésotuberculine* ».

M. Finzi a vu, en effet, qu'on peut tuer une tuberculine diagnostique active moyennant de l'eau physiologique ou de l'eau formolée ajoutées dans le ballon avec la membrane bacillaire résiduelle, après avoir exporté le bouillon, et q'on peut de même répéter une telle extraction 2-3 fois obtenant toujours un produit à valeur antigène spécifique pour les réactions diagnostiques. (Rend. della R. Acc. dei Lincei, Classe Scienze fisiche, matematiche e naturali: Notes de M. G. Finzi – présentées par le membre correspondant M. A. Dionisi – le 27 juin 1929). « *L'anaésotuberculine » dans le diagnostic de la Tuberculose en Pathologie comparée;* le 7 décembre 1930: « *Tuberculine et anaésotuberculine* »; le 2 février 1931: *Substances anatoxigènes et caractères spéciaux de l'anaésotuberculine* », etc.

D'un autre côté, la démonstration que ces partigènes qu'on peut si facilement extraire du corps bacillaire ne peuvent pas être considérés comme des ésotoxines, nous est donnée par la différente tolérance des organismes pour la tuberculine et pour la toxine diphtérique.

Dans le premier cas, l'individu qui n'est pas infecté peut tolérer sans

réaction l'introduction de la tuberculine, tandis que le sujet infecté repond par des faits inflammatoires locaux et généraux, même s'il a été inoculé avec une dose plus petite. Dans le deuxième cas l'on a presque l'inverse (Pirquet positive: sujet infecté par le bac. tuberculeux; Schick positive: sujet indemne de la contagion diphtérique).

Or, ces faits élémentaires et universellement connus, même en déhors des autres connaissances auxquelles je me suis déjà rapporté, auraient dû empêcher M. Zavagli de donner une interprétation qui ne corresponde point de tout à l'esprit qui m'a suggéré (et ici je ne m'occuperai pas même des autres AA. auxquels il a voulu m'associer) d'initier et de développer l'étude expérimentale sur le « vaccin-formol-tuberculeux » à propos duquel je disais que le formol agit « comme un bactéricide, comme une substance fixatrice et atténuatrice de la fraction toxique ».

En considération des raisons déjà mentionnées, et que j'ai bien exposées dans mon travail paru en 1927 (Boll. Istituto Sieroterapico Milanese fasc. IV), j'étais bien loin de penser, et moins encore d'admettre, — ainsi que M. Zavagli voudrait faire maintenant — l'existence d'une analogie intime entre une toxine et une tuberculine.

Pour bien comprendre l'impossibilité de soutenir une pareille comparaison, il suffirait de se rappeler que les tuberculines brutes (suivant la méthode de R. Koch) sont obtenues moyennant un chauffage élevé des bouillon-cultures.

Si nous chauffons la toxine diphtérique à la même température nécessaire pour préparer la tuberculine brute, nous constatons qu'elle est non toxique comme l'anatoxine de Ramon et qu'elle est même dépourvue de toute valeur spécifique antigène.

M. Zavagli, n'ayant pas pris en juste considération tout cela (Annali d'Igiene, Fasc. XII, XLI 1931) a fait des épreuves qui n'auraient pas pu avoir un résultat différent et qui n'autorisent pas à tirer les conclusions auxquelles il a voulu parvenir.

Ne pouvant pas considérer la tuberculine comme une toxine, il n'aurait pas pu tirer beaucoup de l'épreuve de la floculation du complexus tuberculine-sérum antituberculeux, épreuve essayée qui, depuis longtemps, a abouti aux mêmes résultats incertains. Cela ne doit pas surprendre, car si l'existence d'une toxine diphtérique et de son antitoxine spécifique est certaine, il est aussi certain que *jusqu'à présent il n'existe pas une antituberculine et pas même un sérum antituberculeux.*

Le terme de « anatuberculine » que moi j'ai employé le premier, ne peut pas être entendu comme *anatoxine tuberculeuse.*

On n'a pas encore établi si le b. de Koch produit une ésotoxine; en tout cas, elle entrerait comme quantité moindre parmi les constituants de la culture intégrale, dont mon *anatuberculine* résulte formée, et encore

comme petite partie parmi les partigènes de la *fraction diagnostique*. Mon « anatuberculine », seule parmi toutes les tuberculines, la contiendrait comme une véritable anatoxine (dans les vieilles tuberculines elle est certainement détruite par la chaleur, probablement avec les autres partigènes dont nous ne connaissons jusqu'à présent la valeur biotoxique).

C'est précisément pour pouvoir supprimer l'action de la chaleur que j'ai pensé au formol comme à un bactéricide, comme à une substance fixatrice et atténuatrice de la fraction toxique et j'ai parfaitement atteint mon but. « *Si M. Ramon a appelé anatoxine cette toxine qui, moyennant le formol devient inoffensive pour l'animal sain chez lequel elle agit pourtant comme un bon antigène, je ne pouvais analogiquement qu'appeler « anatuberculine » cette suspension de bac. tuberculeux virulents, rendue inoffensive, à l'aide du formol, pour l'animal sain chez lequel elle agit comme un bon antigène, quoique par une phénoménologie différente de celle qu'on observe dans le malade.*

Ce terme me semblait approprié même pour témoigner que, quoique dans un champ différent, mon procédé s'était inspiré à la méthode Ramon.

On pourra affirmer que la vieille tuberculine possède les propriétés susmentionnées, mais il ne faut pas oublier que dans celle-ci on supprime la pathogénicité, moyennant la chaleur; qu'elle produit dans les antigénes trop de modifications, et, qu'en tout cas, s'il existe de véritables ésotoxines du bac. tuberculeux, il les détruit, de sorte que les tuberculines brutes ne peuvent jamais contenir de véritables *anatoxine tuberculeuses*.

Il ne devrait pas être possible de rendre anatoxique une tuberculine brute qui, pendant l'action de la chaleur, a déjà atteint une dégradation profonde de sa toxicité et une destruction de plusieurs partigènes, mais si les recherches de MM. F. Arloing et F. Thévenot (Soc. de Biol. Lyon, 17 mars 1930, en C.R.S.B.T. CIII, p. 1118; Bull. Inst. Pasteur, N. 13-115, juin 1930) ont démontré que cela est possible, cela signifie que, vis-à-vis de certains partigènes toxiques non déterminés, le formol développe une action plus profonde que celle de la chaleur. Cependant pour instituer une comparaison, on devrait partir, en général, de la suspension bacillaire vivante, de laquelle je part pour former l'*anatuberculine*, et non pas de son filtré sur bougie poreuse, car il a dejà perdu plusieurs partigènes.

EN CONCLUSION.

Le nom de « *Anatuberculine* » fut introduit en Biologie par moi même, en 1926-27, pour indiquer, analogiquement à ce que M. Ramon avait trouvé pour les toxines bactériques, une tuberculine à valeur antigène excellente, provenant d'une suspension de bac. vivants et virulents, et étant devenue, à l'aide du formol, non pathogène et non toxique.

Pour la préparation de l'« anatuberculine » après de nombreux essais d'orientement, commencés depuis 1924, j'avais choisi le procédé suivant:

Les enduits bacillaires de nombreuses souches de tbc. récemment isolées et cultivées sur le milieu à moi, recueillies dans de l'eau ammoniacale, ou les bouillon-cultures intégrales additionnées d'ammoniaque à l'1% étaient homogéinisées en les agitant dans des ballons avec de granules de quartz, pendant trois jours; puis j'ajoutais du formol au 2% et je laissais le tout dans le thermostate pour 2-3 semaines, à 37°, en agitant tous les jours; enfin je neutralisais le formol à pH 7,2.

Depuis 1926 j'indiquais la partie liquide, privée des corps bacillaires par sédimentation ou centrifugation, comme « *anatuberculine diagnostique* » et l'emploi que, suivant mon conseil, en on fait les médecins, en a confirmé les excellentes qualités antigènes.

Quant au fait que le liquide de la culture ou de la seule suspension de bac. de Koch possède une particulière qualité antigène spécifique, il a résulté exact d'après une abondante collection de travaux analytiques roulant sur les composants hydro-et alcali-solubles du bac. de Koch, et les recherches de M. Finzi l'ont confirmé.

C'est donc bien à tort que M. Zavagli considère l'*anatuberculine* comme une *anatoxine tuberculeuse*, de sorte que sa critique est totalement dépourvue de fondement.

Institut d'Hygiène et Bactériologie de la R. Université de Sienne.

PETRAGNANI G. — **À propos de nouvelles expériences pour la reconstitution "in vitro" de bacilles acido-résistant des filtrés.**

J'ai cultivé la souche de tbc. Vallée, le 9 janvier, en sept ballons de la capacité de 250 cmc., et contenant 100 cmc. de milieu Sauton à pH 6,9. L'ensemencement fut accompli au moyen d'un voile léger né en 7 jours, dans un autre ballon de Sauton, qui avait été, à son tour, ensemencé moyennant le voile recueilli de l'eau glycérinée d'une culture sur pomme de terre à la Roux. Le 16 janvier, ces sept ballons de milieu Sauton présentaient toute leur surface couverte par un voile bacillaire léger, continuel, non rougueux. On les enleva du thermostate qui avait marché à 38° C. et on les laissa à la température ambiante, à partir du samedi soir jusqu'à l'après-midi du lundi (40 heures); ce fut alors que je syphonnai le liquide de culture (qui présentait un pH de 7,3) et que j'émulsionnai les voiles restés dans les ballons, en ajoutant à chacun d'eux de petites boules de verre stériles et 25 cmc. de solution physiologique stérile. J'agitai pendant quelques minutes.

Des différents ballons, on réunit l'émulsion, aseptiquement, dans un Erlenmeyer stérile et, après l'avoir laissée pendant 24 heures à température ambiante, on la filtra sur papier, on lui ajouta 1 cmc. d'une culture-bouillon de *bacille prodigieux*, et on filtra sur Chamberland L 2 choisie au moyen de mon appareil pour mésurer la porosité (1). Au bout de 8 minutes, plus de 100 cmc. de liquide filtrèrent à la seule dépression de 30 cm. de Hg.

Dans une grosse éprouvette stérile je mis 1,5 cmc. de solution de $CaCl_2$ au 5%, puis 30 cmc. du filtré et je fis descendre assez doucement, 6 cmc. d'une solution au 5% de Na_2HPO_4. Le précipité blanc, floconneux, apparaissaît en même temps que j'ajoutais cette dernière solution. À l'aide d'une pipette tarée et sans donner aucune secousse au liquide, j'en prélevai 1 cmc. que je distribuai à grosse gouttes sur quatre lames nouvelles, que je fis sécher à température ambiante. J'inoculai le liquide qui restait dans le péritoine de deux cobayes, dans la quantité de cmc. 12,6 chacun.

Le matin on fixa les préparés qui avaient demeurés, pendant toute la nuit, à sécher à température ambiante, et on les colora par la méthode Ziehl-Neelsen, avec toutes les précautions pour éviter qu'ils eussent à se détacher pendant les lavages. Après une recherche minutieuse, je trouvai dans chaque préparation de petits amas de bacilles acido-résistants typiques. Le soir du 20 janvier, je pris de nouveau le filtré gardé à température ambiante, j'en mis 10 cmc. dans une grosse éprouvette où il y avait ½ cmc. de la solution de $CaCl_2$ et j'y fis descendre, goutte à goutte, 2 cmc. de la solution de Na_2HPO_4, de manière que les gouttes eussent à tomber perpendiculairement de 10-15 cm. de hauteur dans le liquide de l'éprouvette gardée dans une parfaite position verticale.

À ce même moment, je répétai un essai pareil, moyennant le filtré d'une expérience précédente, que j'avais obtenu le 9 janvier et que j'avais gardé à température ambiante.

J'apprêtai tout de suite, après avoir ajouté du phosphate disodique, de nombreux *préparés à grosse goutte*. J'en fus ensuite à secouer énergiquement le liquide dans les grosses éprouvettes (de manière à pouvoir juger de l'action de l'homogénéisation ou émulsion du précipité sur la formation des bacilles), et j'apprêtai d'autres préparés, de la même manière. Après les avoir fait dessécher pendant toute la nuit à température ambiante, j'ajoutai à quelques uns d'entre eux, avant de les fixer par la chaleur,

(1) À une atmosphère de pression de petites bulles d'air sortaient de la surface de la bougie. On ne rencontre cette perméabilité régulière de toute la surface, à une atmosphère de pression, que peu de fois dans les L 2, qui, le plus souvent, présentent une perméabilité plus grossière de la partie haute, proche de l'émail, et une inertie de la partie inférieure.

une petite goutte de sérum de sang, très frais, de cobaye (que j'avais obtenu par la centrifugation du sang prélevé du coeur) et je frottai sur la lame avec l'aiguille de platine, de manière à bien mélanger encore dans le sérum le matériel déjà desséché. J'attendis que ces préparations eussent à sécher de nouveau, à température ambiante, après quoi je les fixai à la flamme et je les coloriai suivant la méthode Ziehl-Neelsen; j'évitai de les sécher au moyen de papier, en les séchant plutôt par l'air chaud près d'un bec Bunsen.

Dans tous les préparés je trouvai de très beaux et typiques petits groups de bacilles acido-résistants, que l'on peut parfaitement rapporter aux bacilles de Koch; j'ai pu constater, en particulier, le peu d'importance des secousses et, — ainsi que dans mes précédentes expériences sur le *phénol bactérien* — la grande utilité d'ajouter des sérums de sang pour fixer sur les lames les éléments formés qui, dans les préparés de ces matériels où les substances salines facilement solubles ont une prééminence, se détachent pendant les périodes de la coloration.

Dans les préparations apprêtées à l'aide du filtré du 9 janvier, conservées 11 jours à température ambiante et fixées sans ajouter du sérum, je ne suis réussi qu'à faire ressortir de rares bacilles, tandis que dans celles fixées avec du sérum, je remarquai dans chaque préparation de véritables îlots de typiques bacilles acido-résistants groupés.

D'après mon avis, dans le filtré vieilli l'on a une sorte de condensation plus facile des petites parties dont se composent à nouveau les corps bacillaires. Dans ces derniers, les bacilles sont moins éparpillés que dans les préparés de filtré frais. J'avais, en effet, remarqué le même fait dans les préparés apprêtés par les expériences moyennant l'*anatuberculine*.

Je peux ajouter ici que j'ai cherché, au cours d'autres expériences, de donner cette fixité aux préparés, en les additionnant du blanc d'oeuf de poulet, et que j'ai constaté qu'il a une résistance acide bien nette.

Les deux cobayes qui avaient été soumis, le 19 soir, à l'injection d'un mélange de 10 cmc. de filtré, plus cmc. 0,5 de $CaCl_2$ et cmc. 2 de Na_2 HPO 4 (en total cmc. 12,5 de *filtré précipité* « *in vitro* » pour chaque animal) furent tués au bout de 48 heures, et de chacun d'eux on fit six couples de préparés du pus calcique trouvé dans leur péritoine, des ganglions lymphatiques et de la rate qu'on avait constaté un peu grossis.

Des deux cobayes qui, le 19 janvier, reçurent dans le péritoine cmc. 2,5 du précipité calcique et qui le 21 eurent 10 cmc. chacun, du même filtré, gardé à température ambiante, un seul fut tué le 23 soir et je trouvai les ganglions lymphatiques et la rate grossis (1). De ce cobaye aussi je fis

(1) Cette polyadénie remarquée chez les cobayes de cette expérience fit défaut dans les précédentes, pratiquées, elles-aussi, avec des filtrés de la meme souche Vallée cultivée sur milieu Sauton.

six couples de préparés. Dans les premiers cobayes, de même que dans ce dernier, la recherche a été positive, mais *j'ai trouvé dans les préparés un nombre de bacilles inférieur, jamais entassés, ainsi qu'il arrive dans les préparés obtenus du même filtré précipité « in vitro »*.

Dans les préparations obtenues des deux cobayes injectés moyennant du *filtré précipité « in vitro »*, tandis que les bacilles acido-résistants bien définis étaient assez rares, les formes acido-résistants abondaient, pareilles à des bacilles corrompus, comme en voie de dissolution.

J'ai pu ajouter encore une expérience plus démonstrative que les autres: afin d'étudier si la démarche du pH du milieu Sauton ensemencé moyennant une souche bovine, était égale à celle que j'avais constaté pour le bouillon glycériné (Voir Boll. d. Sez. Ital. Soc. Internaz. di Microbiologia, novembre 1931) ensemencé moyennant une souche humaine, j'ai ensemencé le 28-12-1931, avec une souche Vallée (lambeaux de voile pris d'un autre ballon Sauton, ensemencé le 15-12-1931 moyennant une culture en pomme de terre glycérinée) trois boules à section carrée. Deux d'entre-elles contenaient 250 cmc. de liquide, et l'autre 600 cmc.

On mit en thermostate, en position horizontale, l'une des deux boules, avec cmc. 250, de manière que le liquide eût une double surface libre et une épaisseur équivalente à moitié de l'autre. Voici la démarche du pH dans le liquide de culture Sauton de ces trois boules:

	28-XII-931	9-I-932	17-I-932	26-I-932
Ballon horiz. avec 250 cmc.	pH 7,02	7,38	7,54	5,2
Ballon vertic. avec 250 cmc.	pH 7,02	7,9	6,9	5.9
Ballon vertic. avec 600 cmc.	pH 7,02	7,4	7,34	7,1

Le développement des bacilles dans les ballons était très abondant. Je syphonnai au dessous des voiles, le liquide cultural, en le réunissant dans une même boule. J'en filtrai sur Chamberland L 2, avec une dépression de 30 cmc. de Hg., plus de 100 cmc., en 10 minutes. *Ce liquide Sauton filtré avait pH* 6,75.

Le 27 janvier, je mis 5 cmc. de ce *filtré* dans une éprouvette, j'y ajoutai cmc. 0,25 de solution au 5% de $CaCl_2$ et ensuite 1 cmc. de solution au 5% de Na_2HPO_4; j'eus seulement du troublement.

A cinq autres cmc. du même *Sauton filtré*, j'ajoutai d'abord cmc. 0,5 de solution de NaCl au 9%, et ensuite les solutions de $CaCl_2$ et Na_2HPO_4, avec le même résultat.

A 5 autres cmc. du *Sauton filtré* j'additionnai une petite goutte de NH_4OH, apte à porter la réaction à un certain degré d'alcalinité, et ensuite les solutions de $CaCl_2$ et de Na_2HPO_4; j'obtins ainsi un précipité floconneux presqu'immédiat.

Je répétai l'expérience précédente, en ajoutant préalablement 0,5 cmc. de NaCl au 9%; j'obtins un précipité encore plus immédiat.

Je répétai cette dernière expérience, en faisant l'alcalinisation au moyen d'une solution de NaOH et j'eus de même un précipité floconneux immédiat.

De chacune de ces éprouvettes, je tirai des *préparés à grosse goutte* (4 gouttes de liquide sur chaque lame) ajoutant ensuite, ainsi que je l'ai déjà dit, une petite goutte de sérum frais de cobaye.

Le lendemain je constatai que, même dans les éprouvettes non alcalinisées, il s'était produit un dépôt par alcalinisation survenue lentement. Les préparés des liquides non alcalinisés n'étaient pas encore séchées, de manière que je dus en provoquer le séchage en les chauffant près de la flamme Bunsen.

Après fixation, tandis que les préparations du *filtré alcalin* présentaient une surface sèche, celles, obtenues de *filtré acide* avaient un aspect comme d'une membrane demi-hyaline (ces préparations, après avoir été fixées à la flamme et laissées à l'air ambiant, devinrent, au bout de qualques heures, nouvellement humides, à cause d'un évident pouvoir hygroscopique).

Je coloriai ces préparations moyennant la méthode de Ziehl-Neelsen, et je les séchai à l'air chaud, près de la flamme d'un bec Bunsen. Il faut éviter de les sécher à l'aide du papier, car ce matériel pêtri avec du sérum, pendant les périodes de la coloration, s'imprègne d'eau et devient comme une petite membrane gélatineuse, qui est très fragile.

Dans les préparés avec du *filtré non alcalinisé* j'ai constaté une acido-résistance de tous le champ et quelques éléments bacillaires. Dans les préparés alcalins, au contraire, et en particulier dans ceux où l'on avait ajouté au *filtré* du chlorure sodique et de l'ammoniaque, je trouvai, à chaque point, des groupes et de petits tas de bacilles acido-résistants typiques.

J'ai ensemencé sur mes milieux pour la tuberculoses ces liquides si riches en bacilles, de même que j'en ai injecté dans un cobaye.

Dans ces recherches il y a donc la démonstration de la manière dont on peut reconstruire, avec toutes leurs caractéristiques, des corps bacillaires de colloïdes déjà à l'état *sol*, et aptes à traverser des bougies poreuses. Ces mycelles doivent être adérentes au corps bacillaire, ou, du moins, doivent se trouver très abondants dans le voile bacillaire qui flotte sur le milieu pendant la phase initiale du développement; car, à ce moment on peut extraire facilement le voile bacillaire en solution physiologique, si toutefois on l'émulsionne. Peu à peu, comme le liquide de culture déjà remarquablement alcalin devient acide, ces partigènes passent du corps bacillaire dans ce liquide.

Il suffit de donner *à ce liquide cultural filtré* (qui n'est autre chose qu'une *tuberculine suivant Denys*) une réaction alcaline, et de déterminer la formation d'un précipité floconneux, pour qu'immédiatement des corps bacillaires se produisent « *in vitro* ».

En résumé:

1) Le phénomène de l'apparition rapide des corps bacillaires acido-résistants dans le péritoine du cobaye préparé d'après Van Deynse, et inoculé avec ce qu'on appelle l'*ultravirus tbc.*, peut être répété même au moyen d'injections de filtré chauffé à 65° C., pendant une heure, et de celui gardé pendant 10 jours à l'étuve, avec l'1% de formol.

2) Le filtré suivant Valtis (voile tbc. Vallée avec développement de 8 jours sur Sauton, émulsionné en solution physiologique et filtré sur bougies Chamberland L 1 et L 2) reproduit « in vitro », encore mieux que « in vivo », et d'une manière tout à fait immédiate, ce phénomène de la récomposition bacillaire, si toutefois nous ajoutons au filtré (10 cmc.) d'abord une solution au 5% de $CaCl_2$ (cmc. 0,5) et ensuite une solution au 5% de Na_2HPO_4 (cmc. 2). Lorsque nous ajoutons le Na_2HPO_4, il y a formation d'un précipité floconneux de phosphate de calcium et de nombreux bacilles acido-résistants.

3) Ce phénomène peut être très bien répété « in vitro » moyennant le filtré de l'*anatuberculine partie diagnostique*, que l'A. a déjà décrit depuis 1926 (où sans doute le virus tuberculeux est mort).

4) Le liquide Sauton où le bacille tbc. (souche Vallée) s'est assez bien développé pendant quatre semaines de manière que la réaction, montée d'abord à l'alcalin et descendue ensuite à l'acide, est filtré et traité ainsi que nous l'avons dit plus haut; ce liquide ne présente pas de bacilles, ou en petit nombre seulement et assez tard, de même qu'avec difficulté et assez tard a lieu la précipitation de phosphate calcique.

Si, au contraire, il est alcalinisé (avec NH_4OH), et mieux encore si l'on y ajoute du NaCl, dans la proportion de 0,9%, alors un beau précipité floconneux se forme tout de suite, et dans les préparés on trouve de véritables amas de corps acido-résistants.

* * *

Ces résultats peuvent être rapportés à ceux que l'A. a obtenus moyennant le phénol (Atti R. Acc. dei Fisiocritici di Siena, Assemblée du 31 juillet 1931; Boll. Sez. It. Soc. Internaz. di Microbiologia, fasc. XI, 1931). Ils montrent que la *formation rapide de ce qu'on appelle l'ultravirus de bacilles non virulents, non cultivables et passagers, est un phénomène que*

l'on peut répétér même « in vitro », d'une manière tout à fait immédiate, au moyen de filtrés vivants et morts.

Ces bacilles acido-résistants n'indiquent donc aucune période d'un cycle présumé du virus tuberculeux, mais ils sont la conséquence d'un interessant phénomène de mouvement des colloïdes des corps bacillaires, même morts, sous des influences physio-chimiques. Ce phénomène, tel que nous sommes en train de l'analyser, se présente plein d'intérêt et de promesses, non seulement pour ce cas particulier, mais pour d'autres champs de la biologie et de la pathologie aussi.

Pour ce qui est de la pratique immédiate, il est raisonnable de penser que ce phénomène peut bien servir pour juger de la richesse en partigènes et de l'état de conservation des tuberculines.

Institut d'Hygiène et Bactériologie de la R. Université de Sienne.

SECHI G. – **La vitesse de sédimentation des globules rouges dans la Tuberculose pulmonaire. Etude synthétique-critique.**

Le mécanisme de la réaction de V. S. Gl. R. (Vitesse de sédimentation des Globules Rouges) n'a pas encore été bien interprétée. Les diverses théories qui ont été énoncées, bien que très géniales, n'arrivent pas encore à expliquer la phénoménologie intime de la réaction, et elles contrastent aussi parfois avec ce qu'on observe pratiquement.

A l'origine, la théorie physique eut un certain crédit. Cette théorie rapproche le phénomène de la sédimentation globulaire à la chute des corps sphériques dans un milieu liquide, de sorte qu'on pourrait appliquer, d'après Delhaie, la formule de Stökes:

$$\frac{1}{2} \cdot g \cdot \frac{D\text{-}d}{n} \; 2^2 \text{ au } g = \text{accéleration de gravité;}$$

D = densité des sphères; d = densité du liquide;

n = une constante; r = rayon des sphères.

Cette théorie est sans doute appréciable, et elle pourrait aussi résulter exacte au point de vue exclusivement physique, mais puisque on ne peut absolument pas comparer le sang à n'importe quel autre milieu liquide où des corps sphériques se trouvent immergés, il en dérive par conséquent que le mécanisme intime de la V. S. Gl. R. ne peut pas être expliqué d'une façon si simple.

A la théorie physique en effet suivit bientôt la théorie biochimique

et à celle-ci, ou pour mieux dire à complément de celle-ci, fit suite la théorie bio-électrochimique.

La théorie biochimique attribue le phénomène de la V. S. Gl. R. à l'augmentation dans le plasma sanguin des fractions globuliniques (fibrinogène, euglobuline, pseudo-globuline). Cette théorie s'appuye aussi sur le fait que même expérimentalement on a observé une augmentation de V. S. Gl. R. toutes les fois qu'il se produit une augmentation de fibrinogène, une augmentation de la labilité plasmatique, c'est à dire une augmentation des quotients moins dispersés des proteines du plasma (Rondoni). On trouverait l'explication de ce phénomène dans la différence de vitesse de sédimentation qu'on rencontre moyennant le plasma plus que le sérum (Fahraeus, Linzenmeyer, Höber, Oettingen), et il est en outre assuré que la différence n'est pas dans les globules mais dans le liquide plasmatique. En effet la perte du fibrinogène, si elle n'arrive pas à la supprimer, atténue la différence entre le sang materiel et le sang foetal, qui sont les deux extrèmes les plus typiques de l'échelle de la vitesse de sédimentation; d'autre part les globules des sujets normaux se déposent plus vitement dans le plasma des femmes enceintes que dans celui des femmes en état normal, lorsqu'ils sont suspendus en solution physiologique ou en solution isotonique de saccharose (Rondoni). Ces observation seraient confirmées par les expériences de M. Pittimada, qui a constaté que même des poudres inertes (Caolin) se déposent plus vitement dans le plasma des femmes enceintes que dans celui des femmes en état normal, tel qu'il arrive dans les hématies. D'autre part, Linzenmeyer a démontré que le traitement du plasma par des absorbants électro-négatifs (talc, caolin, charbon animal, *bolus alba*) diminue fortement l'aptitude de ce plasma à faire précipiter les hématies successivement ajoutées; l'absorbant électro-négatif extrairait donc du plasma les substances électro-positives aptes à décharger les hématies, qui à cause de cela ne précipiteraient plus si rapidement (Rondoni).

Cette théorie électrique ne contraste pas avec la théorie biochimique, mais au contraire elle se complète en elle. En effet d'après Höber, lorsque dans le plasma les fractions globuliniques augmentent, les globules rouges recouvreraient leurs surfaces d'une couche globulinique au lieu qu'albuminique, comme de règle. Et puisque les globulines possèdent un point iso-électrique correspondant à pH = 5,4, tandis que les albumines le possedent à pH = 4,7, nous trouverons que le point isoélectrique des globulines est plus près que celui des albumines, de la réaction normale presque neutre du sang, qui est de pH 7. Par consequent lorsqu'il y a une augmentation de globulines dans le plasma celles-ci viendront absorbées davantage par les globules rouges, qui auraient ainsi une charge moindre étant moindre la charge de la couhge proteïque absorbé, de

sorte qu'ils se repousseront moins, c'est-à-dire ils augmenteront la vitesse de sédimentation.

Cette théorie est aujourd'hui acceptée par la plupart des AA., mais il y en a encore plusieurs qui croient pouvoir expliquer outrement le mécanisme de la V. S. Gl. R. Une difference de la tension superficielle du plasma, de la quantité des globules rouges, du contenu hémoglobinique, de l'index colorimétrique du sang, de la viscosité du sang, du pouvoir de coagulation du sang, du contenu en cholestérine dans le sang, etc.

Les diverse interprétations thériques pour expliquer le mécanisme d'action de la vitesse de sédimentation nous démontrent déjà, par elles mêmes, combien il soit difficile d'en interpréter les résultats pratiques, pas seulement quand elle est exécutée sur le sang d'un individu normal, mais aussi et même plus si elle est exécutée sur le sang d'un sujet malade. Selon mon avis, toutes les théories, plus ou moins géniales que je viens d'époser sont en erreur dans le sens qu'elles considèrent le sang comme faisant partie de par soi même c'est-à-dire comme étant « isolé » de l'organisme duquel il dérive. On oublie, en somme, qu'il est surtout une substance vivante, et sujette, par conséquent, pas seulement à toutes les lois biologiques des organismes vivants, mais directement dépendante de toutes les fonctions physiologiques des differents organes du corps. On ne doit donc pas s'étonner, comprenant les choses dans ce sens, si la vitesse de sédimentation pratiquée pendant plusieurs jours consécutifs sur un même individu peut donner des résultats très divers d'un jour à l'autre, comme M. Ferrio a démontré. Nous ne pouvons donc pas rechercher ces différences dans les théories que j'ai exposées, puisque elles ne parviendraient à rien nous expliquer, mais il faudrait les rechercher plutôt dans les modifications que le sang vivant subit continuellement par les causes les plus variées, étant lié à chaque perturbation de l'organisme ou, pour mieux dire, de tous les organes et les appareils en particulier, et pour cela donc il ne peut pas se soustraire aux influences exercées par ceux-ci. Et je ne crois pas qu'on puisse attribuer une valeur à la possible objection que nous n'exécutons pas l'essai de la vitesse de sédimentation sur du sang normal, mais sur du sang citraté, puisque je ne crois pas que la solution faible de citrate de sodium que nous employons, puisse détruire, du moins, dans un certain limite de temps, les propriétés biologiques du sang. Nous savons en effet que l'acide citrique contient trois groupes acids et un groupe alcoolique, de sorte que l'on peut obtenir trois séries de citrates, dont les neutres sont tribasiques: nous avons ainsi une grande quantité de sels doubles et triples (de sodium, de magnésium, de fer et de magnésium, de fer et d'ammonium) dont l'action biologique dépend exclusivement de la base, puisque l'acide citrique, en petites doses, n'exerce pas une action biologique importante, mais il se comporte comme un acide faible (Gioffredi).

Il est facile à comprendre, après cela, comment la réaction de V. S. Gl. R. puisse donner déjà chez le sujet normal des variations dans le sens exposé par M. Ferrio. C'est-à-dire, donc, qu'elle nous revèle un état de manque d'équilibre organique, que naturellement nous trouverons beaucoup plus accentué chez le sujet en état de maladie. L'altération ou pour mieux dire, l'état anormal physique, biochimique ou électro-biochimique du sang ne peut donc être considéré que comme un facteur déterminant la vitesse de sédimentation, puisque les différents états dans lesquels le sang se trouve sont toujours dépendants et provoqués par une disfonctionnalité organique de l'organisme.

De cela il en dérivent deux données importantes: l'aspécificité de la réaction de V. S. Gl. R. et l'explication de la raison par laquelle, même chez des individus normaux, on peut obtenir des résultats positifs. — Je n'insiste pas sur cette dernière donnée, car ce que j'ai dit l'explique déjà suffisamment. Pour ce qui concerne l'aspecificité, même ne voulant pas prendre en considération la conception théorique que j'ai exposé, on l'a trouvée au point de vue pratique positive dans les maladies phlogistiques en général, et dans toutes les maladies dans lesquelles il y a une destruction de tissus et un métabolisme organique altéré. La V. S. Gl. R. ne peut dons absolument pas être tenue en considération pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire, comme quelques auteurs voudraient (Bacmeister, Gerber et Schönbeck, Wensowicz).

Quant à la valeur pronostique de la vitesse de sédimentation, pas tous les savants se trouvent d'accord, bien qu'en général on admette qu'elle a dans ce champ une certaine importance. Ainsi, tandis que quelques uns lui accordent une grande valeur pronostique dans les diverses formes tuberculeux, d'autres au contraire lui nient une telle valeur entièrement ou en partie, surtout parce que la réaction peut être influencée par de differents facteurs, c'est-à-dire par des facteurs exogènes, qui peuvent influencer la réaction et les diverses modalités techniques. Moi, par exemple, j'ai pu constater comment la pression atmosphérique ait une grande influence sur l'allure de la réaction; et M. Ferrio aussi partage cette opinion. On connait aussi les expériences de Banjamin et Frimont-Moller, en Inde, qui obtinrent des modifications sur le cours de la réaction dans les differentes zones climatiques, tandis qu'ils ne trouvèrent aucune différence chez les diverses races, européennes et indiennes (Benjamin). Et aux mêmes conclusions arrive aussi M. Kapp après ses recherches sur la valeur de la vitesse de sédimentation dans la plaine ou dans l'haute montagne (Bâle et Davos — 1500 m. sur le niveau de la mer).

Plus importante et pratique me paraît la question des modifications que la V. S. Gl. R. subit pendant le traitement thérapeutique du malade. En général les Auteurs sont d'accord sur ce point (Sayago, Villafave,

Lastra, Martinelli, Frimont-Moller, Benjamin, Helbach, Richmann et Ernst, Ferrari, Klare et Pfaff, Doria, Luzzato-Fegiz, Bay-Schmidt, Theil, Mattei et Jasienski, etc.).

L'autre point sur lequel je voudrais attirer l'attention, c'est le grand nombre de modifications techniques proposées, et qui, à mon avis n'ont obtenu et ne peuvent obtenir d'autre effet que de confondre davantage les choses, en arrivant souvent à des conclusions tout à fait errées et en opposition absolue avec la logique la plus évidente. C'est ainsi que, à côté des techniques classiques de Linzenmayer et de Westergreen qui nous donnent des résultats assez concordants, nous trouvons de nombreuses modifications de ces mêmes techniques, qui semblent se préoccuper moins, de l'exactitude de la réaction que de réduire le temps d'observation au minimum. Et celui-ci semblerait en effet le but vers lequel tendent Herold en proposant de centrifuger pendant cinq minutes le sang citraté; Pointdecker qui conseille l'emploi de tubes d'un diamètre de 7 mm. et de la longueur de 7 cm., dans lesquels il verse le sang citraté, et il en fait la lecture après 15 minutes, mesurant le niveau de la colonne des globules rouges au moyen d'un ruban millimétré de papier; Kinduffe pour qui la lecture est déjà suffisante après 15 minutes. Les autres méthodes proposées par Kunin, Pogason, May-Buchwald, ne sont que des modifications d'une moindre importance apportées à la méthode de Westergreen. Beaucoup d'intérêt présentent au contraire la méthode de Cutler et celle moyennant l'appareil proposé par Hammreich, dénommé « sedigraph » (Leitz-Berlin) qui a été étudié en Italie spécialement par M. Foà, et qui enregistre photographiquement la reaction au moyen d'un système à horlogerie qui fait tourner un cylindre sur lequel est appliqué un papier sensible (1).

La méthode de Cutler consiste dans l'emploi de tubes de 5 cm. gradués extérieurement en mm. Après y avoir versé le sang citraté on y observe la sédimentation toutes les 5 minutes, pendant une heure et les données obtenues sont reportées sur un spécial tableau (graphique), où sur les abscisses sont marquées en mm. les distances du tube, et sur les ordonnées on marque les intervalles du temps. Cette méthode de l'enregistrement graphique de Cutler est certainement excellente, parce que elle permet de suivre la réaction dans ses particularités, mais je pense que le temps d'observation est trop bref; et c'est bien pour cela que moi, tout en voulant exécuter pratiquement l'enregistrement graphique de la

---

(1) Sur la base du même principe de l'appareil de M. Stammreich, j'ai proposé un appareil, que j'ai fait bréveter et construire chez la Maison E. de Petro de Novara; il présente une praticité absolue, puisque il peut être manoeuvré, en pleine lumière, et l'enrégistrement photographique peut être éxécuté soit sur un film, soit sur du papier au bromure, soit sur du papier au citrate.

Par cet appareil on obtient des graphiques très nettes. Je donnerai les détails de cet appareil dans une publication prochaîne.

réaction, sans recourir à l'appareil d'enregistrement photographique que j'ai proposé (voir la note a p. 64), j'ai estimé meiux de marquer l'observation sur la graphique toutes les quinze minutes, jusqu'au terme de la réaction même, exécutée par la technique de Linzenmayer. D'un intérêt fort remarquable sont les microméthodes qui, selon les M. sont spécialement appropriées pour les recherches chez les enfants et dans tous ces cas où l'on ne veut ou bien l'on ne peut pas recourir à la piqûre de la veine. Pour un tel but Linzenmayer et Raunet conseillent l'emploi de pipettes capillaires de 1 mm. de diamètre et d'autres, variantes de 6,25 à 12.50 mm. (modèle grand et moyen) qui exigent une goutte de sang pour l'éssai.

La lecture est fait en mm. et en secondes; Langer et Schmidt emploient des tubes très courts de 2,5 mm. de diamétre; Kaufmann emploie une pipette spéciale; Walsen se sert de la pipette pour le noumbrement des leucocytes, il centrifuge pendant peu de temps (50 tours) et il fait la comparaison avec un sang normal traité de la même façon: Müller-Scheven emploient des pipettes de la largeur de 1 mm. et de la longueur de 15 cm., où l'on aspire successivement la solution citratée jusqu'à une hauteur de 3 cm., et le sang jusqu'à l'hauteur de 12 cm. Les deux liquides sont introduits à nouveau dans un petit récipient *ad hoc* afin de les mélanger, et nouvellement aspirés jusqu'à l'hauteur de 10 cm. La lecture est faite d'après la méthode de Westergreen ou d'après la méthode de Linzenmayer; Pointdecker et Siess emploient des capillaires au diamètre de 1 mm. Le sang citraté est aspiré jusqu'à l'hauteur de 5 cm. et la lecture est faite après 3/4 d'heure; ensuite ces Auteurs ont modifié leur méthode en employant, au lieu des capillaires, des tubes de la largeur de 7 mm. et de la longueur de 5 mm. où ils versent le mélange du sang citraté préparé à part dans un récipient à cet usage.

Patschenoff et Waill conseillent une méthode qui se rapproche de celle de Müller-Scheven; Balachowsky exécute la réaction sur le sang non citraté, étant suffisant d'après cet Auteur, de l'aspirer dans une pipette capillaire précédemment lavé avec une solution d'oxalate de calcium au 5%; la lecture des résultats, exprimés en mm., est faite après 15-30 minutes; des méthodes à peu près égales à celles-ci furent proposées par Lilles, Cumming, et Olbrecht; plus interessante et géniale est la méthode proposée par Sahlgren: elle consiste dans l'emploi d'une lame de 9+8 cm. ayant 2 mm. d'épaisseur et six divisions, afin de déterminer des distances sur la surface; 5 petites lamelles de 2 mm. environ d'épaisseur et de 20 cm. de diamètre, et enfin 2 pipettes, la première ayant 5 divisions volumétriques de 3, 4, 5, 6, 7 cm., la deuxième pareille à la précédente, divisée en 5 parties égales de 5 mmc. Sur chaque division de la lame on pose une goutte de citrate de soude au 3,7% et successivement une goutte de sang

prélevé du doigt. On agite un peu, on applique la lamelle et après 5 minutes on l'examine au microscope. Selon le dégré de la disposition en piles de monnaies on calcule l'intensité d'agglutination des hématies.

Une modification technique d'une importance remarquable consiste, dans le fait d'inoculer dans le sujet en examen (Gräfe et Renwein), ou d'additionner au liquide anti-coagulant citraté (Foà) de la tuberculine à una diluition convenue: cette simple modification de technique rendrait davantage sensible la réaction de V. S. Gl. R.

Mais après tout ce que nous avons dit, nous devons enfin nous poser une question: quel crédit faut il accorder à la V. S. Gl. R. soit au point de vue clinique qu'au point de vue économique-social? C'est à dire, pouvons-nous établir seulement sur la base de la réponse de cette réaction si le sujet que nous avons pris en examen peut ou moins s'adonner à n'importe quel travail, même léger, de façon à représenter un effectif, bien que relatif allègement pour la société? Sans doute la réponse ne peute être qu'unique, c'est à dire négative. Nous ne devons pas oublier à ce propos que la question économique-sociale de la tuberculose est intimement liée à la question très complexe de la curabilité et de la probabilité de guérison de la tuberculose; c'est pourquoi il n'est pas possible de séparer les deux question.

Et à ce propos c'est aussi bon de remarquer, ainsi que M. Rondoni le dit, que l'instabilité tuberculeuse est intimement liée aux lois qui dominent la tuberculose humaine.

Avec cela je crois donc avoir entièrement exposé ma pensée au sujet de l'importance qu'on doir accorder à la V. S. Gl. R., considérée en soi même: c'est-à-dire qu'au moment actuel de nos connaissances nous ne pouvons pas attribuer à la réaction de V. S. Gl. R., dans les diverses formes tuberculeuses en général et dans la tuberculose pulmonaire en particulier, une valeur plus grande que celle que nous avons l'habitude d'attribuer à toute autre épreuve de laboratoire. Je crois pourtant que par la conception théorique que j'ai exposée, nous pouvons mieux comprendre son mécanisme d'action; cependant, à mon avis, elle ne peut pas être prise en considération pour le diagnostic de la tuberculose et on peut seulement lui accorder un peu de crédit du côté économique-social, mais toujours quand les autres examens exécutés sur le patient (examen clinique, radiologique, essais de laboratoire et biologiques) se trouvent d'accord.

Institut de Physiologie de l'O. P. Poliambulance « G. Rondoni ».

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.

BORGHI B. – **Le comportement de l'infection par Trypanosoma Lewisi, dans le rat adulte et dans le rat jeune.**

Plusieurs faits cliniques et expérimentaux nous permettent de penser qu'un organisme jeune réagit différemment d'un organisme adulte, lorsque celui-ci vient atteint d'une maladie infectieuse.

Génériquement on peut interpréter ce fait sans oublier, qu'aux égards des germes pathogènes l'organisme jeune représente une entité complètement neuve, avec de spéciales modalités de réaction, même en dépendence du fait que celui-ci se trouve en plein développement.

Dans ces recherches nous nous sommes proposés de voir de quelle façon s'écoule l'infection par Trypanosoma Lewisi chez le rat jeune en comparaison du rat adulte. Nous avons choisi le Trypanosoma Lewisi parce qu'étant bien connu l'agent transmetteur (Ctenocephalus Canis) cela nous permet d'effectuer notre recherche dans des conditions naturelles, et parce que n'étant pas celui-ci pathogène, il nous consent une longue observation des animaux.

Nous avons infectés deux séries d'animaux jeunes. Une première série qui comprend neuf rats âgés de 21 jours et une deuxième comprenant sept rats âgés de 4 jours. Pour avoir des données de comparaison on ajouta trois rats à la première série et deux à la seconde.

Ces animaux furent infectés, au moyen de l'administration par voie orale, d'une suspension de puces (Ctenecephalus Canis), dans de l'eau de condensation de milieux à l'agar-sang, qui auparavant étaient nourries avec du sang de rat infecté par Trypanosoma Lewisi.

Nous pouvons résumer le cours de l'infection: de la façon suivante

Rats adultes. — Période d'incubation 4-5 jours. Maximum de l'intensité de l'infection entre le 9ème et le 10ème jour depuis l'administration de la suspension infectante et cours régulier sans une oscillation sensible du nombre des trypanosomes dans la circulation jusqu'à l'épuisement de l'infection qui *cède par crise* chez 4 rats après 65 jours environ du début, et chez un rat après 103 jours.

Rats jeunes. — Pas de différence en comparaison des rats adultes pour ce qui regarde la période d'incubation. Même chez ces derniers on rencontra le maximum de l'infection entre le 9ème et le 10ème jour. A cette époque pourtant deux rats tout à fait jeunes (ils étaient âgés de 4 jours) moururent. Chez les animaux qui restaient l'infection s'écoula sans aucune variation pendant 15 jours encore, pour rétrocéder ensuite d'intensité (diminution des nombres des trypanosomes dans la circulation). Au quarantième jour un autre rat appartenant à la série des plus jeunes

(âgé de 4 jours) mourut. A la première diminution d'intensité suivit une recrudescence du processus infectieux et entr'une alternative de rémissions et de recrudescenses, la guérison survint *par lyse* (disparition graduelle des trypanosomes de la circulation sanguigne) 90 jours environ après le début de l'infection. Chez un de ces rats on obtint la guérison après 132 jours.

En résumant, on peut donc conclure:

1) La durée de l'infection chez les rats jeunes a donc été discrétement plus longue que chez les rats adultes.

2) Le Trypanosoma Lewisi qui généralement résulte inoffensif pour le rat, réussit assez fréquemment à tuer le rat jeune (mort de trois animaux sur sept animaux infectés à l'âge de 4 jours).

3) Tandis que chez les rats adultes le cours de l'infection est régulier sans oscillations du nombre des trypanosomes dans la circulation jusqu'à la guerison qui survient *par crise*, chez les rats jeunes on rencontre une alternative de remissions, et de recrudescenses et la guérison survient *par lyse*, c'est-à-dire avec une disparition graduelle des trypanosomes de la circulation.

L'interprétation des faits qu'on a ensuite remarquée, peut être faite en se rappelant toujours bien les diverses propriétés biologiques qui différencient l'organisme jeune de l'organisme adulte. Ce dernier peut plus acilement s'adapter à héberger un parasite, qui, tout en ne développant pas une énergique action pathogénique, lui enlève pourtant, bien que dans des proportions limitées, des substances nutritives, et ainsi on peut facilement atteindre l'équilibre entre hôte et trypanosome. Le rat jeune, au contraire, en pleine activité de développement ressent beaucoup plus la présence du parasite qui lui enlève des substances dont, étant lui même l'hôte, il a absolument besoin.

Les remissions suivies des recrudescences que nous avons pu surprendre plusieurs fois singulièrement chez les animaux jeunes pendant le cours de l'infection, seraient donc, selon notre avis, l'effet de la lutte qui va s'instaurer entre l'organisme hébergeant et le parasite, et elles peuvent très bien être expliquées par des phénomènes d'*athrepsie* qui se sont vérifiés ou en faveur du rat (diminution de l'intensité de l'infection), ou en faveur du trypanosome qui répond avec la formation de souches sélectionnées (retour de l'infection à son intensité primitive). Parfois on vérifierait l'athrepsie comme complètement favorable au trypanosome, et, en ce dernier cas, on rencontrerait la mort de l'animal.

Il nous resterait donc encore à donner une interprétation au fait qui regarde cette plus longue durée de l'infection et de la guérison *par lyse* qu'on a pu vérifier chez l'animal jeune. Selon notre avis ces faits

dépendent d'une formation plus difficile d'anticorps, ce qui pourrait signifier une plus modique réactivité humorale de l'organisme jeune, et cela s'accorde avec tout ce que plusieurs auteurs, parmi lesquels nous rappellerons Ribadeau, Dumas, Loiseau, et Lacomme (1), Natan, Larrier, Ramon et Grasset (2), ont déjà affirmé.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) Ribadeau, Dumas, Loiseau et Lacomme, « Soc. M. Hôp. », 1925, p. 1121-1123; 1926, p. 1350.
(2) Natan, Larrier, Ramon et Grasset, « Compt. R. Mc. d. Science », 1926, p. 458.

BORGHI B. – Observations au sujet de quelques propriétés biologiques du Trypanosoma Lewisi.

Le fait de rechercher si le passage des trypanosomes à travers l'organisme de ces transmetteurs naturels a la possibilité d'apporter quelques modifications aux propriétés biologiques de ces mêmes trypanosomes, nous apparaît encore comme un fait de grande importance. Gonder (1) par exemple a observé qu'une souche de *Trypanosoma Lewisi* devenue résistant à l'arsénophenylglyzine garde une telle proprieté si elle est cultivée sur des milieux artificiels de culture, mais elle perd cette même propriété par le passage dans l'*Hematopinus Spinulosus* qui est un des transmetteurs ordinaires du *Trypanosoma Lewisi* aux rats. Ces recherches pourtant n'ont pas été confirmées par Reichenow et Regendanz (2) dans un travail assez récent. Duke (3) en expérimentant avec du *Trypanosoma Brucei*, a pu observer qu'un tel trypanosome devenu arséno-résistant ne perd pas cette propriété acquise, par le passage dans la mouche Tze-Tze.

D'un autre côté Schilling et Schreck (4) au contraire, ont réussi à constater que les souches de récidive, caractérisées par une séro-résistance sont modifiées dans leur propriété antigène par leur passage dans la glossine. Le but de nos recherches a été celui de voir:

1) si auprès des différences morphologiques déjà connues, des deux formes de *Trypanosoma Lewisi*, c'est-à-dire celle qui est contenue dans l'intestin des puces infectées, et celle qui se présente normalement dans le sang des rats infectés, il existe aussi des différences biologiques;

2) si le passage d'une ancienne souche maintenue en vie au moyen d'injections directes, de rat en rat, subit des modifications dans sa propriété antigène par son passage à travers les puces.

On recourut pour cela, à la méthode classique de l'emploi d'immunsérum. Etant connu que les anticorps contenus en celui-ci sont strictement spécifiques, pas seulement pour l'espèce mais aussi pour la souche,

il en dérive logiquement que par cette méthode il est permis d'établir la plus ou moins grande entité de diverses souches en examen.

Avant tout nous avons établi pendant de nombreuses expériences, que les formes caractéristiques du *trypanosoma Lewisi*, contenues dans le canal intestinal des puces infectées, possèdent la propriété d'infecter le rat lorsqu'elles lui viennent administrées per la voie des muqueuses (muqueuses du tube digestif). Nous avons constaté très nettement ce fait qui s'accorde avec tout ce que d'autres Auteurs ont déjà précédemment établi. En employant une technique qui eût exclu d'une façon sûre toute lésion des muqueuses (dégouttement d'une suspension de trypanosomes dans du bouillon citraté), nous n'avons jamais réussi à obtenir l'infection des animaux en employant au contraire la forme du *trypanosoma Lewisi* contenue dans le sang d'un rat infecté.

Pour ce qui concerne les différences immunologiques entre ces deux formes, sur la base de nos expériences nous pouvons dire, qu'un immunsérum d'un rat guéri d'une infection trypanosomique possède une action efficace, soit lorsqu'il est essayé vis-à-vis des trypanosomes *de la forme du sang* de rat, soit vis-à-vis des trypanosomes *de la forme des puces*. D'égaux rapports d'identité immunologique sont intercurrents entre une ancienne souche de *Trypanosoma Lewisi* maintenue en vie au moyen de passage direct de rat en rat, et une souche fraîche obtenue, par l'infection des rats au moyen de puces qui avaient été précédemment alimentées avec du sang de rat infecté.

En conclusion nous pouvons dire à ce sujet que l'unique différence existante entre le *Trypanosoma Lewisi* de la forme du sang de rat, et le *Trypanosoma Lewisi* de la forme des puces, regarde seulement le pouvoir d'infection lorsque ces deux formes sont administrées aux animaux par la voie des muqueuses. Ainsi que nous avons pu constater, tandis qu'une telle propriété est possedée par les formes contenues dans le canal intestinal des puces infectées, les formes du sang n'ont pas cette propriété; ni le passage d'une ancienne souche à travers l'insect transmetteur ne serait capable de modifier d'une manière quelconque les propriétés antigènes des deux souches immulonogiquement comparées.

Si ces recherches mettent en évidence l'importance du passage des trypanosomes à travers l'hôte transmetteur, elles peuvent cependant regarder aussi seulement le *Trypanosoma Lewisi* qui, par un ensemble de propriétés biologiques doit être considéré comme un trypanosome tout à fait spécial.

BIBLIOGRAPHIE.

(1) Gonder, « Zentralbl. Bakt. », 1° orig., Bd. 61, 1911.
(2) Reichenow et Regendnaz, « Nocht Festscrift », Hamburg, 1927, p. 446.
(3) Duke, « Int. Rapp. League of Nat. C. H. », 536, p. 25.
(4) Schilling et Schreck, « Scritti in onore del prof. U. Gabbi », Parma, 1930.

CANELLI A. – **Recherches sur le streptococcus viridans dans les amygdalites chroniques des petits enfants et des enfants.**

Les recherches que j'ai commencées il y a quelques années, s'appuyent sur cent cas d'amygdalite chronique qui ont presque toujours été opérées (98%) d'amygdalotomie, et très rarement d'amygdalectomie.

J'ai expressément choisi les amygdalites chroniques — qui datent au moins depuis deux ans — chez des sujets ni cardiopathiques, ni néphropathiques, ni arthritiques (cliniquement du moins) parce que je désirais m'assurer de l'existence ou moins du *streptococcus mitior seu viridans* dans les amygdales, avant que les complications susdites furent survenues, d'autant plus que chez les néphropathiques, chez les cardiopathiques et chez les arthritiques la flore bactérienne amygdalienne peut subir quelques variations conformement à les complications susmentionnées. J'ai examiné par simple frottis, avec des colorations appropriées à ce but et par culture, le matériel qui représente habituellement le foyer infectieu chronique endo-amygdalien, c'est-à-dire celui qui provient de petits abcès, de petites masses caséeuses, aussi bien ouvertes que soudées, ou enkystées, des bouchons lacunaires, des concrétions, assez souvent existantes au fond des cryptes. Comme j'examinais le matériel provenant des interventions chirurgicales, je ne puis pas affirmer qu'il eût existé sur la surface libre des amygdales plutôt qu'à l'interieur des cryptes. Cependant, je donne ma préférence à ce dernier siège. Je fais cette remarque parce que quelques Auteurs — Davis, par exemple — croient que le *Streptococcus viridans* ne se développe autrement que sur la surface libre des amygdales. Le matériel examiné provenait toujours d'amygdales qui n'avaient jamais été exportées pendant la période infective aigüe.

D'après mes recherches, la flore bactérienne est généralement beaucoup plus nombreuse dans les amygdales crypteuses, avec ou sans de petits abcès, et dans celles fibreuses et partiellement sclérotiques que dans les amygdales très hypertrophiques, compactes et lymphoïdes. Il en est que, très souvent, chez les petits enfants et chez les enfants, on a d'abord l'amygdale hypertrophique et lymphoïde et puis, secondairement, par de réiterés processus inflammatoires locaux et aïgus, on a l'amygdale crypteuse abcessuelle.

J'ai négligé exprèssément la flore mycétique telle qu'elle fut illustrée par plusieurs Auteurs, parmi lesquels, en 1926, M. Carnevale-Ricci.

Je suis cependant convaincu que la flore mycétique a une grande importance dans la pathologie amygdalienne soit pour les lésions qu'elle détermine dans l'épithélium de revêtement des cryptes amygdaliennes, soit pour les substances toxiques provenant de leur métabolisme, soit

pour les différentes conditions biochimiques induites par les mycètes dans les tissus de l'organe. La flore mycétique peut initier ou empirer la phlogose amygdalienne.

J'ai rencontré la flore bactérienne dans tous mes cent cas. En réalité, j'ai examiné deuxcent amygdales, mais puisque les fragments des deux amygdales d'un même individu étaient examinées ensemble au point de vue bactériologique, dans ma statistique je me rapporte aux cent cas examinés. En 62 cas j'ai trouvé associés en quantité prévalente et parfois presqu'en *culture pure*, le streptocoque et le staphylocoque, en 3 le pneumocoque, en 2 le tétragène, en 10 le bacille fusiforme, en 9 le staphylocoque, en 11 le streptocoque, en 3 des formes mixtes. Dans les 62 cas que j'ai nommés le streptocoque prévalait dis inctement.

C'est à ce germe que j'ai adressé mon attention.

J'ai suivi la classification de Schottmüller, qui distingue les streptocoques en quatre types: *vulgaris haemoliticus*, *viridans*, *putridus* et *mucosus*. De mes 73 cas où existaient le streptocoque pur ou associé, 64 présentaient le type *vulgaris haemolyticus* et 9 le type *viridans*. Les différences culturales étaient si bien évidentes qu'elles ne laissaient aucun doute. Bouillon clair avec de gros flocons au fond pour le premier type, trouble homogène avec un mince precipité pour le deuxième type. Incoagulabilité du lait pour le premier type, coagulabilité pour le deuxième. Non fluidification de la gélatine de la part de tous les deux types. Dans l'agar-sang, absence de coloration pour le premier type, coloration verte pour le deuxième type. Hémolyse du côté du premier type; absence ou presque, du côté du deuxième type. Il en est donc, d'après mes recherches, que le *streptococcus vulgaris* se trouve présent dans le 87,5%, et le *viridans* dans le 12,5%. Ce dernier pourcentage est assez fort. Et en plus, d'après mon avis, celui-ci est susceptible à une sensible augmentation, si l'on prend en considération le fait, vérifié par moi même, que des 64 cas du type *vulgaris haemolyticus*, 7 (= 11%) présentaient la caractéristique suivante:

Ayant essayé la virulence de ces sept souches du *streptococcus vulgaris* qui résultait légère, j' inoculais avec celles-ci des souris. Après quarante-huit heures environ, pour tous les essais differentiels que j'ai referés il résultait alors qu'il ne s'agissait plus du type *vulgaris*, mais du *viridans*, susceptible ce dernier d'être repigué en série. J'ai dû convenir que Wolff, Schitzer et Munter ont bien raison de soutenir la transformation de la forme hémolitique en celle anhémolitique. Je n'ai pas réussi à obtenir la transformation inverse, telle que, par exemple, l'obtintent Rosenow et Reichenmiller. En considération de mes recherches expérimentales et du fait que dans le 12,5% de tous mes cas, je trouvai le *streptocoque viridans* déjà dès le début, il ne me semble pas de trop ha-

sarder en pensant que dans les amygdales malades des petits enfants et des enfants, le streptocoque peut subir, définitivement ou temporainement, un tel comportement biologique variable, apte à déterminer le passage de son propre type à un autre. Une telle transformation biologique survient, vraisemblablement, par de spéciales variations d'ambiant, réferables à la biochimique de la cavité orale.

Anton, Kuczynsky et Micheli, en effet, réfèrent d'avoir cultivé le streptocoque *viridans* avec de particuliers mélanges nutritifs, qui reproduisaient les conditions chimiques de la cavité orale. Les conditions chimiques de celle-ci, la biologie de la flore bactérienne et mycétique concomitante, les conditions mêmes du métabolisme générale peuvent représenter de valables facteurs du déterminisme des variations biologiques du streptocoque.

Ainsi que, par exemple, il arrive, dans d'autres conditions pour le pneumocoque et pour le méningocoque.

Si cette thèse expérimentale sera confirmée par de plus amples recherches, elle aménera à la revision étiologique de certaines endocardites qui ont eu un début insidieux dans l'âge infantile, et qui ensuite se sont déclarées dans l'âge adulte avec l'expression clinique de lésion valvulaire. Plus souvent qu'on le croit, le streptocoque *viridans* peut être soupçonné comme cause de plusieurs cardoipathies qu'on peut aujourd'hui attribuer à d'autres facteurs étiologiques. La même classification de Schottmüller pourra être modifiée dans le sens qu'elle peut indiquer la différente personnalité biologico-clinique du streptocoque, plus qu'une differente individualité sistematisée et circonscrite à elle-même.

Institut pour l'étude des maladies interdepentes
entre l'âge infantile et l'âge adulte - Milan.

DOLDI S. – **L'action des Microrganismes sur la Dicyandiamide.**

La dicyandiamide, également dite cyanoguanidine, est obtenue moyennant la polimérisarion de la cyanamide. La dicyandiamide peut, parfois, se former dans le terrein agraire, par transformation de la calcium-cyanamide. D'après quelques expérimentateurs (Perotti, Ulpiani, Aso, etc.) elle serait une source d'azote pour les plantes et pour les microrganismes du terrein, tandis que d'autres AA. (Loew, Münzinger, Waeser, etc.) la considèrent toxique, soit pour les unes que pour les autres; enfin, suivant d'autres rechercheurs (Cowie) sa toxicité se développerait sur certains microrganismes et non pas sur les autres.

J'ai pratiqué quelques expériences agraires moyennant la dicyan-

diamide, chez la Station Expérimentale de Bactériologie Agraire de Crema, et j'ai constaté que dans un type de terrein sablonneux, avec substance organique 7%, la dicyandiamide se comporte d'une façon tout à fait différente de celle que l'on constate lorsqu'il s'agit d'un type de terrein fertile, ayant un contenu abondant de substance organique (36%). En effet, tandis que dans le premier cas, la valeur fertilisante de la dicyandiamide est de beaucoup inférieure, par exemple, à celle du nitrate sodique (à quantité d'azote égale,) dans l'autres cas elle est égale à celle du nitrate et de la calcio-cyanamide (1).

C'est pourquoi j'ai pensé que la dicyandiamide devrait être utilisée par les plantes, à cause de l'action des microrganismes du sol.

J'ai préparé la dicyandiamide, suivant la méthode décrite par M. Hetherington et Brahn. J'ai cristallisé deux fois, partant de l'alcool: le produit obtenu fondait exactement à 205°.

Par le moyen de cette dicyandiamide, j'ai préparé, sur la base de la formule de Dox, trois différents liquides de culture. Dans le premier, la dicyandiamide (2,250°/₀₀) était la source unique de l'azote et du carbone (liquide *a*); dans le deuxième, la dicyandiamide était la source unique de l'azote et la source partielle du carbone; j'additionnais ce liquide de 5°/₀₀ de glucose (liquide *b*); enfin, dans le troisième, au 2,250°/₀₀ de dicyandiamide, j'ajoutais le 40°/°° de glucose (liquide *c*); dans ce dernier liquide j'ai utilisé le phosphate monopotassique, au lieu du bipotassique, dont je m'étais servi pour les liquides *a* et *b*, mais j'en ai employé une quantité égale; le liquide *c* a donc une réaction acide. Les liquides en question étaient stérilisés à l'étuve, pendant 20′, à 3/4 d'atmosphère.

Pour les liquides *a* et *b* dans les éprouvettes, je faisais les ensemencements à l'aide du même terrein que j'avais employé pour mes expériences agraires (IIème type), en ajoutant, dans quelques unes de ces éprouvettes, de l'huile de vaseline afin de rendre possible le développement des anaérobies. J'ai placé une partie de ces tubes à température ambiante; une autre partie, à la température de 30 degrés, et encore une autre à 37. Dans les éprouvettes contenant le liquide *a* seulement les anaerobies ont poussé; dans le liquide *b* il y a eu naissance d'aérobies et d'anaérobies. En pénétrant dans ces tubes, j'ai ensemencé des plaques agar à l'eau-liquide *b*. J'ai transplanté les colonies sur un milieu: agar à l'eau incliné-liquide *b*, jusqu'à obtenir, par des repiquages successifs des cultures pures. J'ai apaissi, c'est-à-dire j'ai obtenu des cultures plus riches en agar ordinaire incliné, après quoi j'ai ensemencé en des ballons contenant environ 250 cmc. de liquide. Ces ballons étaient portés à la température *optimun* pour la culture ensemencée. Par contre, pour le liquide *c*, j'ai préparé des pla-

(1) Doldi S. - *Del valore fertilizzante della diciandiamide.* (En cours de publication, dans le « Giornale di Chimica Industriale e Applicata ».

ques agar eau-liquide *c*; comme le développement était faible, j'ai apaissi en agar-malt et, à l'aide de cela, j'ai ensemencé dans els ballons.

Par le moyen de ces trois liquides, j'ai recueilli, avec toute vraisemblance, presque toute la flore active, existant dans le type de terrein utilisé au cours de mes expériences; dans les liquides *a* et *b* il s'agissait surtout de schizomycètes; dans le liquide *c* il y avait preponderance de moisissures. Dans les premiers deux cas, le nombre des espèces fut élevé; dans le troisième cas, au contraire, les variétés de moisissures recueillies étaient rares. En vue de cela, j'ai préparé des plaques agar glucosé-liquide *c*, mais, même de cette manière, la quantité des espèces obetnues ne fut pas supérieure ou différente de celle obtenue moyennant des plaques agar eau-liquide *c*, de sorte que l'on doit conclure que le terrein était effectivement pauvre en moisissures.

La méthode de dosage de la dicyandiamide, que j'ai suivi, consiste en précipitant le composé comme picrate d'argent-monocyanoguanidine (Méthode de Hager). Cette méthode s'était démontrée applicable au dosage de la dicyandiamide dans ces liquides culturaux. Au bout de dix jours, à partir de l'ensemencement, j'ai fait une détermination et j'en ai fait une autre après trente jours. En examinant les résultat obtenus j'ai constaté que, dans certains cas, le poids du precipité obtenu dans les ballons ensemencés était inférieur, tandis que dans d'autres ballons il était supérieur au poids du precipité obtenu dans les ballons stériles qui avaient servi comme contrôle. C'est pourquoi j'ai estimé que, dans ces conditions, d'autres composés, probablement produits de décomposition, devaient précipiter en dehors de la dicyandiamide.

La précipitation du ione-potassium comme picrate est exclue, car le précipité calciné à la soufflerie n'a jamais laissé de résidu. L'hypothèse que j'ai avancé, que le précipité ne fût pas le composé picrate d'argent monocyanoguanidine, est appuyée par les observations suivantes:

1) En beaucoup de cas, le composé dissous dans de l'eau bouillante, donne, par addition de HC1 délayé, seulement une opaléscence et non pas une précipitation abondante comme on l'observe l'orsquon emploie une égale quantité d'argent picrate de monocyanoguanidine. Cela démontre que dans le précipité il n'y a pas d'argent ou presque; parfois il y a seulement celui de la solution qu'on a utilisée pour le lavage du précipité.

2) L'*habitus* des précipités est, en beaucoup de cas, tout à fait différent de celui des contrôles, soit pour la couleur, soit pour la forme, temps de formation, poids spécifique; en plusieurs cas l'on (peut distinguer nettement dans le même verre, deux et même trois précipités différents).

3) La dicyandiamide ne précipite pas comme picrate de dicyandiamide. Par contre, on voit précipiter comme picrate quelques uns d'entre ses produits de transformation, à savoir: la guanidine, la mélammine, la dicyandiamidine, etc. Dans les ballons contrôles je n'ai jamais obtenu un précipité, moyennant l'addition du seul acide picrique après avoir faiblement acidifié à l'aide de HNO_3; tandis que dans plusieurs ballons ensemencés (20 positifs sur les 33 examinés) j'ai obtenu, par cela, un précipité. Parmi ces derniers, j'ai choisi celui qui donnait une plus forte quantité de précipité, et précisément le N. 139. Au bout de 30 jours, le précipité obtenu moyennant le nitrate d'argent et l'acide picrique (celui qui devrait être de la dicyandiamide) était de 1,86‰; le précipité obtenu moyennant seulement l'acide picrique était de 0,860‰. Lorsque ce dernier est convenablement purifié, il se décompose, sans fondre, autour de 250°. On a pratiqué une détermination de l'azote, sur 0,0252 gr. Il en est résulté N = 25,75%. Pour un ensemble de considérations, on ne peut pas identifier le composé à l'examen, conme un picrate de guanidine ou autre; son azote s'appròche de beaucoup à celui qu'on a calculé pour el picrate de l'acide amido-dicyanique (?) (N calculé = = 26,84%) et à celui du picrate d'ammélide (?) (N calculé = 27,45%).

De ce qui précède, il résulte que la dicyandiamide subit une transformation sous l'action des microrganismes; et, d'autre part, il ressort que la méthode de dosage de Hager n'est pas applicable en présence d'une grande quantité de produits de transformation de la dicyandiamide. L'identification des produits de transformation s'est démontrés extrèmement difficile, à cause de différentes raisons.

En effet, les très petites quantités de dicyandiamide qu'on avait mis, au débout, dans le liquide, n'ont pas permis de tenter une séparation moyennant les solvents. Certaines réaction caractéristiques se basent ou sur le pouvoir réducteur des composés sur les sels minéraux, ou bien sur leur comportement vis-à-vis du sulfate de cuivre; le glucose, qui est, par lui-même, réducteur, rend impossible leur application.

Ainsi que je viens de le dire, l'identification comme picrate n'a pas été possible; la formation du sel d'argent, les colorations avec hypochlorite et d'autres encore, ne sont pas sûres et elles sont communes à trop de produits de décomposition.

Cependant, en deux ballons ensemencés — le premier moyennant le *bacillus mesentericus*, le second moyennant un *bacillus* du groupe *mesentericus* (n'ayant pas pour tant tous les caractères de l'espèce) — on a obtenu un orécipité blanc, par addition de xanthydrol, précipité qu'on doit considérer dû à l'urée, étant donné la spécificité de la réaction. Dans les autres six ballons, ce précipité se produisit en quantité plus modique.

J'ai pratiqué la recherche des cyanures (réaction de Laissaigne, formation de ferri-cyanures) et celle de l'ammoniaque (réaction de Trillat-Tranchet). Le résultat a été toujours négatif.

Pa contre, la formation de iodoforme, en partant des liquides ensemencés (réaction de Lieben) a été fréquente, et même en quantités élevées.

Or, si à cause du manque d'une méthode exacte de dosage, et du fait que les ballons se concentrent, on ne peut pas fournir des données absolues, cependant sur une cinquantine de ballons examinés, pour vingt à peu près, on a une différence supérieure à 0,6 °/₀₀ entre le poids du précipité du ballon contrôle et les poids des ballons ensemencés; pour une dizaine, la différence est supérieure à 0,2 °/₀₀; pour le reste, ou bien il n'y a pas de différence, ou bien le poids du précipité des ballons ensemencés est supérieur à celui des ballons stériles.

On n'a pas procédé à une identification complète des microrganismes isolés. Je rappellerai seulement une streptothricée, le *bacterium pyocyaneum*, le *bacillus mesentericus*, trois autres souches de l'espèce *mesentericus*, une du groupe *vulgatus*, un *aspergillus* du groupe *niger*, un *penicillium* du groupe *glaucum*, un thrichoderme.

Le restant est représenté par des blastomycètes, des bactéries et des cocci d'espèces indéterminées.

De tout ce qu'on a précédemment exposé, deux faits résultent qui sont très importants, e precisément:

1) Etant donné la grande variété et plus spécialement la diversité des espèces actives, l'on peut admettre qu'une grande partie au moins de la flore terricole est active envers la dicyandiamide.

2) Etant donné que la quantité relative disparue est environ cinq fois supérieure à celle qui pourrait se former dans le terrein et admettant que toute la calcium-cyanamide donnée se polimérise en dicyandiamide, bien que les conditions expérimentales soient différentes de celles du terrein, l'on peut admettre que cette dernière est totalement transformée par les microrganismes.

Section pour les recherches de bactériologie industrielle et agricole de l'Institut Sérothérapique de Milan.

FALCHI G. – Recherches sur les dermatomycoses. Note I^e: A' propos du polymorphisme de certains Dermatophytes.

Au cours de certaines recherches mycologiques pratiquées pendant plusieurs années, j'avais eu l'occasion d'observer que parfois, à côté du phénomène bien connu du pléomorphysme propre des Dermatophytes du tipe Trichophyton, Achorion, Microsporon, on pouvait constater des variations dans l'aspect primitif de la culture obtenue des différents points des foyers pathogènes du même sujet.

Et précisément j'avais pu remarquer que, dans un même indivu, le même Dermatophyte provenant d'un foyer inflammatoire unique donnait des cultures qui se différenciaient entre elles soit pour le temps de développement, soit pour l'aspect morphologique.

Mon attention ayant été attirée par ces résultat, j'ai voulu étudier un peu plus de près le phénomène et je me suis occupé surtout des lésions inflammatoires à type de folliculite suppurée, disséminée ou agminée, par Trychophyton.

J'ai alors ensemencé sur milieu à préparation identique (agar-maltosé suivant Sabouraud) faisant partie d'un seul lot de confection, des gouttes de pus provenant des ouvertures folliculaires, ainsi que quelque parcelle de poils prélevées au centre du foyer ou dans les zones marginales. Les cultures ont été gardées à la température ambiante et observées tous les jours; j'ai alors commencé à constater des différences dans l'époque de l'apparition des colonies, apparition qui était plus rapide dans l'ensemencement pratiqué moyennant le poil, en comparaison de celui qu'on avait fait avec le pus. J'ai encore constaté que les premières assumaient un aspect qui se modifiait au fur et à mesure, de sorte qu'au bout de 20 jours on avait deux types de colonies très différentes entre-elles.

Afin d'être plus précis, je vais décrire en résumé le protocole des recherches:

11-7-30 – Ensemencement sur agar maltosé, du pus et des fragments de poils provenant de Kerion trichophytique (tubes à température ambiante).

20-7-30 – Dans le tube ensemencé moyennant les poils on entrevoit des signes de pousse d'éléments mycéliaux minces; dans l'autre tubes on voit seulement quelques colonies de *staphylococcus aureus.*

25-7-30 – Les cultures des poils sont déjà bien évidentes, tandis que les autres commencent à peine à se montrer.

30-7-30 – La culture des poils prend un aspect caractéristique qui

permet déjà de diagnostiquer la présence du mycète; dans l'ensemencement moyennant le pus, l'on peut noter maintenant la pousse de colonies de champignons, ayant un aspect disséminé et irrégulier, et étant moins étendues et plus petites que les autres.

15-8-830 – L'état des cultures peut être résumé de la sorte:

Ensemencement moyennant des fragments de poil. — Culture constitué par une saillie centrale, arrondie, ombiliquée avec quelque sillon radial; de la base de cette saillie, un très fin rayonnement pulvérulent part, qui remonte le long des parois de l'éprouvette. La couleur est d'un blanc éclatant à la périférie, et légèrment jaune au centre.

Ensemencement moyennant le pus. — Des cultures moins évidentes que les autres, constituées par une zone centrale irrégulièrement soulevée, sillonnée, ayant un aspect cérébriforme; par une zone périférique lanugineuse avec une diffusion radiale très épaisse et souple; la couleur est blanche éclatante à la périférie, et jaune brune au centre.

Diagnostic cultural. — Trichophyton Gypseum var. farinulentum. Cet état de chose étant établi, nous avons voulu connaître l'aspect morphologique, et microscopique des deux souches, et c'est pourquoi nous avons recouru à des examens à frais et après coloration préalable, en pratiquant en même temps, des repiquages sur milieux maltosés et des inoculations au cobaye (scarification).

L'examen microscopique de la souche poil (S. P.) nous a fait remarquer ce qui suit:

1) La présence de formations très nombreuses et caractéristiques de conidies en grappe, d'hyphes fertiles avec des aléuries plus ou moins développées.

2) Des spirales mycéliales ayant des spires nombreuses et délicates.

3) Des esquisses de formations fusées.

Dans la culture provenant du pus, nous avons noté un développement plus prononcé de l'appareil mycélial, un nombre reduit de grappes, des spirales rares et minces, plusieurs hyphes sporifères et quelques esquisses de fuseau, c'est-à-dire une nette tendance à revêtir l'aspect que nous connaissons comme étant propre de la phase de pléomorphisme.

À ce moment nous avons examiné les repiquages des deux souches, pratiqués toujours sur le même milieu et en des conditions identiques de vie et d'ambiant. Pour ce qui se rapporte au temps de la pousse, nous avons remarqué que dans le passage. les deux souches se sont comporté de la même façon, c'est-à-dire avec un développement régulièrement lent et parallèle. Pour ce qui en est à l'aspect, la culture S. P. a repro-

duit l'aspect habituel, à savoir: saillie centrale légèrement déprimée et rayonnement finement pulvérulent, tandis que l'autre a présenté la saillie centrale très irrégulière, ondulée, et un rayonnement pulvérulent régulier. Lors du troisième repiquage nous avons constaté, à notre grande merveille, que les deux cultures apparaissaient presque semblables et lors de la quatrième transplantation elles étaient parfaitement identiques soit du côté macroscopique, soit de celui microscopique et même par rapport à l'apparition des faits pléomorphiques,

Lorsque la S. P. a été inoculée au cobayes, elle a provoqué, en septième journée, l'apparition d'une rougeur de la peau sur le point de l'inoculation, la formation de petites croûtes, quelques pustules folliculaires, l'envahissement normal des poils, et la guérison au 27ème jours. Par contre, le cobaye inoculé moyennant la souche pus (à la même période d'observation, et en utilisant un animal du même poids et du même sexe), a montré seulement des lésions érythémateuses, une légère desquamation, et l'envahissement du poil, avec résolution de la forme cutanée au bout de 15 jours.

Lès cultures du quatrième repiquage ont été utilisées pour inoculer une nouvelle couple de cobaye; ces animaux ont montré des lésions érythémato-pustuleuses identiques à celles montrés par les cobayes susdits, la chute des poils, secondaire à ces lésions. La durée de l'éruption à été de 25 à 30 jours, après lesquels la guérison a été complète et définitive.

Voilà, synthétiquement, ce que nous avons pu observer au cours de nos recherches. Les résultats obtenus nous ont poussé à persister dans ces investigation, de sorte que dans deux autres cas de Kerion de la barbe, multiples et disséminés, dont l'un avait été provoqué par *Tr. rosaceum* et l'autre par *Tr. faviforme album*, nous avons pu constater un comportement identique à celui des cas susmentionnés.

En tirant donc des conclusions de ce premier groupe de recherche, il paraît que le mycète isolé des lésions inflammatoires, se comporte d'une façon différente, au point de vue cultural et pathogène, suivant que la culture provient du pus ou du poil envahi; tout cela se vérifie simultanément de sorte que, par les passages successifs, les deux souches reprennent leur aspect et leur virulence normaux.

Avant de passer à l'analyse et à la discussion des considerations se rapportant à ces résultats, voyons rapidement ce que la littérature nous dit, car la question de la variabilité des mycètes, par rapport au type de tissu où ils développent leur action pathogène et aux conditions humorales, a déjà été l'objet de recherches et de considérations.

En comparant l'action pathogène envers les animaux d'un *Tr. Gypseum* isolé du sang avec celle d'un *Tr. Gypseum* isolé d'une trichophytie inflammatoire de la barbe d'un même individu, Jessner parvenait à con-

clure qu'il n'y a pas de grandes différences. Le premier aurait une action pathogène un peu plus modérée que celle du second, tandis que les rétrocultures provenant des inoculations ont un aspect et une virulence normaux.

Arzt et Fuhs, dans un cas de Microsporide ont observé (contrôle de Plaut) que le mycète provenant du sang (*M. Audouini*) avait un aspect un peu différent de celui que le mycète présente d'habitude.

M. Ambrosoli, dans son cas de *favide*, a fait remarquer que le mycète isolé du sang circulant, avait l'aspect d'un *Tr. cratériforme* et non pas d'un *Achorion*, tandis qu'au point de vue morphologique, il s'agissait d'un *Achorion Schönleini*.

MM. Braude e Per, à propos d'un cas d'éruption lichénoïde secondaire à des localisation de *M. lanosum* au cuir chevelu, affirment que le mycète cultivé de l'exanthème présentait des différences remarquables, vis-à-vis de celui qu'on avait isolé de la lésion initiale.

Les recherches de M. H. Hoffmann sont intéressantes et bien conduites; cet A. avait à sa disposition deux souches du même Trichophyton: l'une, isolée moyennant la ponction des glandes, et l'autre provenant de la lésion du cuir chevelu (Kerion). En partant de ces deux souches, l'A. a pu établir, à l'aide de nombre d'investigations culturales et expérimentales, que le *Trichophyton* du cuir chevelu reste plus longtemps sur la peau du cobaye inoculé, et précisément sur le point de l'inoculation, que le *Trichophyton* provenant de la glande; il a constaté aussi que ce dernier montre une pathogénicité moins prononcée, qui persiste jusqu'au cinquième repiquage.

Enfin, chez un sujet atteint de teigne faveuse du cuir chevelu, accompagnée d'une éruption à type *favide*, M. Karrenberg a pu cultiver, à côté de l'*Ach. Sch.* du cuir chevelu, un mycète provenant des éléments de l'exanthème. Ce mycète poussa très lentement (40 jours à 37°) et, macroscopiquement, il avait un aspect et une couleur bien différents de ceux de l'autre culture, quoique il s'agissait d'un *Ach. Sch.* L'A. observa cette différence pendant une année, à travers plusieurs transplantations.

Ce sont donc peu nombreux les AA. qui ont réussi à mettre en évidence les différences culturales présentées par les Dermatophytes prélevés des localisations pathogènes d'un même individu, ou, plus précisément, par ceux qui proviennent du sang circulant (Jessner, Ambrosoli, Arzt et Fuhs), des éruptions (Braude et Per, Karrenberg), et des localisations aux glandes (H. Hoffmann).

Exception faite pour la contribution apportée par M. Hoffmann et par M. Jessner, ces différences ont été seulement morphologiques, dans le sens macroscopique de la culture, et non pas expérimentales.

Or, en revenant à mes observations, nous devons faire attention particulièrement à trois points, à savoir: les variations macro- et microscopiques des cultures provenant de l'exsudat et du poil, les résultats différents chez l'animal inoculé, et le retour progressif de la souche-pus vers un aspect et une pathogénicité normaux.

En prenant en considération ces résultats, nous devons tâcher de les interpréter, en nous rapportant à une action réalisée *in vivo* sur le mycéte par les éléments figurés de l'exsudat dans le foyer pathogène ou bien à la condition dans laquelle le mycète a végété pendant les premiers jours de sa vie culturale, c'est-à-dire lorsqu'il se trouve vis-à-vis des éléments constituant l'exsudat et des germes déposés, avec ceci, sur le milieu.

Est-ce que nous savons, en dehors de la vie parasitaire du mycète dans le poil, quelle est sa façon de se comporter dans ces foyers inflammatoires et plus précisément dans l'exsudat purulent caractéristique de ces lésions?

A vrai dire, en lisant attentivement les Traités classiques, on rencontre bien peu sur l'argument, car, si l'on y trouve une description diligente au point de vue histo-pathologique des lésions inflammatoires provoquées par le *Trichophyton*, on doit constater qu'il n'y a rien ou très peu à propos de la constitution de l'exsudat et, par conséquent, à propos des rapports existant entre ses composants morphologiques et le mycète.

D'après des recherches que je suis en train de pratiquer, je peu affirmer qu'à la suite de plusieurs examens méthodiques des exudats purulents déterminés par le *Trichophyton*, on peut fixer leur composition morphologique comme suit: Granulocytes neutrophiles; éosinophiles; monocytes; spores micéliales libres, plus ou moins nombreuses; germes du type piogène, et éléments histioïdes géants, ayant un noyau granuleux, et doués d'une activité phagocytaire intense envers les éléments fongiques.

Ces résultats, par lesquels on met en évidence la présence de spores micéliales mélangées aux éléments de l'exsudat et nettement assujetties à certaines influences de ces derniers, nous permettent de considérer plus favorablement l'hypothèse avancée dans le but d'interpréter les différences morphologiques, culturales, et pathogènes du mycète que nous avons isolé du pus, en comparaison de celui qui provenait de la S. P.

En d'autres mots, nous pouvons supposer que le mycète qui s'emplante et se développe dans le poil et dans le follicule, moyennant les modalités ordinaires (endo- ectotrix), va émettre sans doute, pour sa pousse normale, des formations mycéliales, qui devront développer leur processus végétatifs parmi les éléments de l'exsudat; or, du fait que ces

formations fongiques se trouvent éloignées de leur *pabulum* normal, qui est le tissu cornéal, tout en gardant leur vitalité, elles seront soumises à des influences qui sont liées autant au milieu où elles se trouvent (infl. enzymatiques), qu'au milieu non idéal ou elles vivent.

Il est vraisemblable que ces influences vont conférer au mycète la mutation temporaire de morphologie et de pathogénicité, que nous avons pu mettre en évidence.

Ces hypothèse sont appuyées par la constatation que je viens d'avoir faite, d'après laquelle le résultat de l'examen microscopique des éléments micéliaux dans l'exsudat purulent n'est pas toujours facile, car si nous pratiquons des examens sur des foyers inflammatoires en voie de résolution, c'est avec beaucoup de difficulté que nous rencontrons le mycète. Tout cela cadre parfaitement, même avec le résultat des cultures que l'on obtient facilement dans la période de l'acmé, tandis qu'il est difficile et même négatif dans la période résolutive (à moins qu'on ne part pas de quelque poil malade).

On doit ajouter à ces considération la constatation que nous avons avérée et suivant laquelle le mycète cultivé à une phase qu'on peut dire presque de souffrance, moyennant des repiquages culturaux successifs, acquiert nouvellement son aspect micro-macroscopique caractéristique et son activité pathogène normale.

Passons maintenant à la deuxième hypothèse. Au cours de l'ensemencement de l'exsudat, nous portons sans doute sur le milieu cultural non seulement le mycète, mais aussi tous les éléments cellulaires et bactériens qui existent dans le foyer inflammatoire; or, le dermatophyte, au commencement de sa vie, devra naturellement pousser en des conditions certainement différentes de celles qu'il aurait rencontré si on l'avait ensemencé tout seul.

Cependant il faut remarquer que, — ainsi que nous l'avons noté dans notre cas, et comme il arrive pour tous les ensemencements d'exsudat, — comme les milieux sont gardés à la température ambiante même s'il apparaît quelque colonie de pyogènes, de ferments ou de pseudoferments, ce sont surtout les premiers qui ont une vie courte et éphémère, tandis que les seconds peuvent végéter plus longtemps. Mais, comme le développement des ferments ne constitue pas la règle, mais représente plutôt une exception de ce que nous appellerons souillures, pour tirer nos déductions nous n'avons qu'à considérer l'action modifiante, l'action de ralentissement des colonies transitoires de pyogènes, et des produits de la lyse des éléments figurés dans l'exsudat.

Le problème de l'influence des germes pyogènes et des autres microrganismes vis-à-vis des mycètes, autant *in vivo* que *in vitro*, est sans doute plein d'intérêt et il mérite d'être étudié à fond; mais, pour le moment,

nous devons nous rapporter exclusivement à un travail de M. Catanei qui a commencé à faire des investigations à ce sujet.

Cet A., à la suite d'un premier groupe de recherches, affirme que dans les cultures souillées, les Trichophytons ne peuvent pas végéter si leur pousse est lente, tandis que les Trichophytons à culture rapide ne ressentent aucune influence, pourvu que l'on garde les cultures mêmes à une température qui ne favorise pas la végétation des germes pyogènes.

De ces recherches qui, jusqu'à prèsent, sont les seules sur l'argument dont il est question, il paraît, du moins pour le moment, qu'à temperature ambiante les bactéries du type pyogène n'ont aucune influence sur le développement des Trichophytons plus communs et, en particulier, de ceux que nous avons isolés.

Donc, en dernière analyse, nos idées doivent être circonscrites à l'hypothèse suivant laquelle le Trichophyton isolé de l'exsudat aurait ressenti *in loco* les influences dues aux ferments leucocytaires, aux germes et aux éléments figurés. En tenant compte des recherches expérimentales de M. Catanei, je pense qu'on puisse se borner à cette hypothèse, en écartant l'autre que nous avons mentionnée, quoique, même en donnant cette interprétation aux faits observés, l'on ait l'impression de n'être pas totalement convaincus.

Il aurait été intéressant d'avoir pu pratiquer, moyennant la souche provenant de l'exsudat, des inoculations chez l'homme, et de faire une comparaison entre celles-ci et les inoculations moyennant la S. P., afin de voir le comportement de la peau et de ses annexés vis-à-vis des variations culturales, morphologiques et pathogènes d'un même mycète.

En somme il aurait été bon de voir si, par la voie expérimentale, on peut parvenir à expliquer ce qu'on observe dans la pratique, où un même mycète donne, dans la même zone cutanée, des lésions tantôt torpides, tantôt inflammatoires (par ex. dans les contagions familiales.)

Je me rapporte strictement aux cas où le foyer de contamination à origine humaine, montre dans les transplantations chez d'autres individus, transplantations liées aux modalités banales de transmission de la dermatomycose, les variations communes de l'activité pathogène.

En s'appuyant donc sur ces premières observations, l'on pourrait arriver à expliquer le fait que dans la transmission accidentelle d'un individu à l'autre, inoculant le mycète qui provient du poil, on peut déterminer la forme inflammatoire, et en inoculant le mycète provenant de l'exsudat purulent ont provoque une lésion plus légère et torpide.

Naturellement tout ce que je viens de dire n'est qu'une simple hypothèse, qui exige des expériences pratiquées dans ce sens, chez l'homme,

n'oubliant pas tout ce qui se rapporte à des différences constitutionnelles de réactivité cutanée, par rapport à l'implantation de ces dermatophytes.

Au point de vue pratique, les résultats obtenus nous apprendent qu'étant donné l'éventualité de ces variations culturales et morphologiques, il faut être toujours très prudents lorqu'on veut déterminer des espèces nouvelles en se basant sur des caractères macro-microscopiques et culturaux ayant toutes les caractéristiques transitoires.

Par cette Note préventive nous n'avons eu d'autre but que de signaler les résultats obtenus, qui devrons être amplifiés, étendus et confirmés en d'autres champs de la pathologie cutanée, liée à l'action des dermatophytes; le résultat, vraiment exceptionnel, apporte une modeste contribution à l'argument si important des dermatomycoses humaines et particulièrement au champ de la variabilité des mycètes, que plusieurs AA. ont déjà étudié et qui peut nous reserver toujours des surprises par rapport à des problèmes d'une importance tout à fait vitale conçernant cet aspect particulier de la pathologie cutanée.

RÉSUMÉ.

À côté de la variabilité des Dermatophytes, variabilité jadis remarquée pour le Tr. isolé du sang (M. Jessner), des glandes lymphatiques (M. H. Hoffmann), pour le Microsporon cultivé aussi du sang (Arzt-Fühs), pour l'Achorion du sang (M. Ambrosoli) et des favides (M. Karrenberg), l'A. rappelle l'attention sur la variabilité culturale, morphologique et pathogène observèe entre le Trichophyton isolé de l'exsudat purulent et celui isolé du poil, dans les lésions inflammatoires trichophytiques.

Clinique de Dermosyphiligraphie de la R. Université de Sassari.

BIBLIOGRAPHIE.

Ambrosoli G. C., « Giornale It. Sifil. Dermat. », vol. 68, p. 820, 1927.
Arzt u. Feuhs, « Arch. f. Dermat. u. Syph. », vol. 143, p. 487, 1927.
Braude-Pèr, « Zeitschr. f. Kinder », vol. 43, p. 525, 1927.
Hoffmann H., « Arch. f. Dermat. u. Syph. », vol. 155, p. 213, 1927.
Karrenberg C. L., « Arch. f. Dermat. u. Syph. », vol. 156, p. 150, 1928.
Jessner M., « Arch. f. Dermat. u. Syph. », vol. 136, p. 416, 1921.
Jessner M., « Arch. f. Dermat. u. Syph. », vol. 145, p. 187, 1924.

FALCHI G. – **Recherches sur les dermatomycoses.** Note IIe: **Sur la possibilité de démontrer la présence d'éléments mycéliaux dans l'exsudat des Trichophyties inflammatoires (folliculites, Kerion).**

En parcourant les Traités classiques qui développent tous les arguments cliniques, épidémiologiques, bactériologiques et histopathologiques se rapportant aux dermatomycoses déterminées par le *Trichophyton*, l'*Achorion*, le *Microsporon*, on pourra certainement remarquer qu'à côté de tous les détails se rattachant à chaque partie de cet argument de la pathologie cutanée, tout à fait particulier et étendu, on ne parle même pas des caractéristiques morphologiques de l'exsudat purulent qui s'accompagne aux formes inflammatoires du type de la folliculite disséminée ou agminée.

Il ne faut pas oublier qu'au cours des recherches culturales portant sur ces localisations mycosiques spéciales, on conseille de procéder moyennant le prélèvement de gouttes de l'exsudat purulent auquel les ouvertures folliculaires donnent issue, et de le déposer sur un milieu cultural approprié, où, dans un laps de temps convenu on pourra assister à la pousse des colonies en conditions de pureté presqu'absolue.

Or, ce procédé qui désormais est pratiqué avec une certitude absolue pour le résultat, a comme présomption l'existance dans cet exsudat, des éléments vitaux du mycète et cela du fait que lorsque le processus inflammatoire atteint son acmé, des fragments de poil, libérés à cause de la destruction du follicule, peuvent être facilement prélevés avec le pus et déposés sur le milieu.

En considération de ce principe qui, désormais, a été consacré par le temps et par l'expérience, personne n'a jamais pensé d'étudier les conditions dans lesquelles vient à se trouver le mycète, agent de la lésion, dans ses rapports avec les éléments de l'exsudat, sa présence et son aspect.

C'est en vue de cela que j'ai voulu instituer des recherches dans le but d'établir quelque donnée par rapport à ce petit détail de la mycopathologie de la peau.

Pour le moment je me suis borné à étudier l'exsudat purulent provenant des trichophyties inflammatoires, du type de folliculite disséminée et agminée.

La technique que j'ai employée dans ma recherche a été très simple: j'éloignais de la lésion tous les produits secondaires, tels les squames, les croûtes, etc.; ensuite je prélevais, à l'aide d'une petite spatule, l'exsudat sortant des ouvertures folliculaires, pour en préparer successivement, avec toute délicatesse, le frottis sur une lame. Après avoir essuyé

et fixé à la flamme le préparé en question, je procédais à sa coloration. Parmi les différentes méthodes que j'ai essayées, j'ai choisi celles de May-Grunwald-Giemsa et de Unna-Pappenheim (10) lesquelles, d'après mon avis, sont les meilleures.

Les résultats obtenus intéressent surtout la façon de se présenter du mycète et les composants morphologiques de l'exsudat.

Coloration Unna-Pappenheim. — A) *Composants morphologiques de l'exsudat:* Granulocytes aux noyaux bien conservés, en proportion prévalente; grands mononucléaires, rares; éléments à type histioïde, au noyau granuleux, vacuolisé.

B) *Mycète:* Il faut remarquer qu'on peut le mettre en évidence assez facilement; il prend très bien la pironine et il se rend bien visible par sa couleur rouge-vif. Au point de vue morphologique, ces éléments mycéliaux ont l'aspect de conidies (spores mycéliales); ils sont, pour la plupart, disséminés isolément, et rarement on les trouves collés les uns aux autres ayant l'aspect caractéristique à chapelet. Normalement leur forme est régulière, quadrangulaire ou, parfois, arrondie, il y a des éléments qui sont petits, d'autres qui sont plutôt grand. Ils sont libres ou bien renfermés dans les histiocytes, et il n'est jamais possible de les observer comme résultat d'un broyage ou de la destruction des résidus des poils malades. La coloration rouge du protoplasma observée à fort grossissement, ne se montre pas uniforme mais un peu irrégulière, avec des variations considérables d'un élément à l'autre.

Coloration May-Grunwald-Giemsa. — Cette méthode nous met à même d'étudier bien mieux la fine morphologie de l'exsudat, dans ses composants. Pareillement, on parvient facilement à mettre en évidence les éléments fongiques, lesquels, moyennant cette coloration, prendent un aspect un peut différent de l'aspect précédent. Ces éléments se montrent comme des formations ovalaires ou arrondies, constituées par une zone centrale qui prend la couleur basique, par une zone claire intermédiaire, et par une zone périphérique, au type de petite cuticule limitante. Pour quelques uns de ces éléments, la zone centrale est colorée uniformément; pour quelques autres, au contraire, elle présente des zones plus ou moins teintées.

Quant aux éléments cellulaires constituant l'exsudat, l'on observe très nettement des granulocytes neutrophiles nombreux, de rares éosinophiles, quelque monocyte et d'abondants histiocytes qui renferment fréquemment les conidies fongiques phagocytés.

Nous allons faire quelque considération à propos de ces données: il faut remarquer tout d'abord, le fait important de la présence, dans

l'exsudat, de mycètes et plus précisément de leurs éléments (conidies), ce que, du moins d'après mes diligentes investigations bibliographiques, n'avait pas encore été signalé; en outre on a ici la connaissance des composants morphologiques, qui démontrent une participation active au processus pathologiques, de la part d'éléments du type tout à fait histioïde doué, entre autre, d'une activité phagocytaire prononcée.

Ces données étant établies, j'ai voulu voir aussi de quelle façon l'exsudat va se modifier, par rapport soit au mycète soit à ses composants morphologiques, pendant le cours de l'affection cutanée surtout lorsqu'elle évolue vers la résolution et la guérison. Jai constaté de la la sorte, que l'exsudat prend, peu à peu, un caractère typiquement et exclusivement histioïde, avec de rares granulocytes, et que la constatation des éléments conidiaux du mycète devient toujours plus rare, jusqu'à ce que, lorsque la mycose n'est pas encore résolue, mais elle a beaucoup atténué ses caractéristiques, il devient impossible de les mettre en évidence à l'aide des modalités de technique susmentionnées. Cette phase coïncide — au point de vue cultural — avec la difficulté d'obtenir les cultures, a moins qu'on ne part pas de quelque résidu du poil envahi par le parasite.

Au point de vue clinique et d'aprés les investigations d'autres AA., nous savons que la guérison de ces lésions, même si elles ne sont pas traitées, est liée, — en ce qui concerne le mécanisme — au moment où, à cause du processus de folliculite, les poils malades sont expulsés. Maintenant nous devons ajouter à nos connaissances, la constatation, certainement importante, que tous les éléments fongiques libres, liés, à l'activité végétative du mycète sont éliminés à cause du pouvoir phagocytaire élévé, des éléments histioïdes.

Ces formations mycéliales que nous avons pu mettre en évidence, comment doivent-elles être interprétées?

Est-ce qu'on doit les considérer comme un indice de l'activité végétative du mycète ayant envahi le poil et le follicule, dans le sens de formations mycéliales vivant dans l'exsudat, ou doit-on penser qu'il s'agit d'éléments détachés et destinés à la mort? Ou, peut être, représentent-ils les suites d'une décomposition des poils envahis par le mycète, décomposition liée au processus inflammatoire?

Si l'on tient compte du fait que, moyennant des parcelles d'exsudat, l'on peut obtenir aisément la culture et que dans nos examens nous n'avons jamais rencontré des fragments ou des débris de poil; que les conidies sont isolées, la plupart, et qu'elles sont rarement disposées à chapelet, et enfin qu'on n'en a pas remarqué les phases de régression, je pense qu'on doit les considérer vivantes et que la constatation de leur présence doit être rapportée au fait qu'elles ont été mises en liberté, dans l'exsudat,

par la flogose folliculaire, ou qu'elles sont, sans autre, des formations s'éloignant du poil en vertu d'une activité végétative normale.

À la suite de ces constatations, je me suis demandé si la morphologie de l'exsudat des trichophyties inflammatoires peut être différenciée de celle des processus communs de folliculite, déterminés par les myogènes et s'il est possible de fixer un tableau morphologique typique des folliculites simples et des folliculites trichophytiques.

Des recherches comparatives que j'ai pratiquées moyennant les même méthodes de technique, je peux deduire qu'en général, la constitution de l'exsudat ne permet pas du tout, de poser ce diagnostic différentiel. Il faut remarquer pourtant, que dans les folliculites banales par pyogènes, l'état des éléments cellulaires nous indique que, quant à la quantité des granulocytes neutrophiles, il y a une petite différence, tandis que par rapport à la morphologie ils existent des faits plus graves de destruction et de décomposition du noyau qu'on ne rencontre pas dans les trichophyties, et enfin que les éléments histioîdes ont, par contre, un aspect identique et se trouvent dans une quantité égale. Il faut ajouter que, tandis que dans les préparés moyennant l'exsudat (provenant des trichophyties inflammatoires) la présence des pyogènes constitue une remarquable rareté, dans les autres préparés ils représentent une partie essentiellement constitutive.

J'ai voulu développer ce dernier point, en pratiquant les investigations relatives, parce qu'on pourrait bien me demander si, après avoir constaté la possibilité de mettre en évidence, moyennant une technique assez facile, l'agent mycélial qui provoque ces particuliers processus inflammatoires de la peau, on peut utiliser la méthode pour le diagnostic.

Pour le moment je dois repondre avec une certaine reserve, car il est nécessaire d'approfondir et d'étendre la méthode de recherche des éléments mycéliaux à d'autres mycoses qui peuvent déterminer des lésions à type suppuratif (*Microsporie*) et il faut établir avec plus d'exactitude l'éventualité de variations dans les résultats.

En outre, il faut tenir compte du fait que pour ce genre d'investigation il est nécessaire un oeil bien exercé d'abord sur des constatations très faciles de formations mycéliales abondantes, afin de reussir à reconnaître avec sureté les rares éléments qui peuvent se trouver dans certains préparés.

À vrai dire cette dernière exception, rentrerait dans les difficultés qu'on rencontre au cours des recherches ordinaires qu'on pratique, dans un but diagnostic, sur les mycoses où, parfois, c'est seulement après un examen fatigant et difficile qu'on parvient à observer quelque rare élément fongique qui consent, finalement, de poser un diagnostic exact.

À ce propos je rappellerai que jadis MM. C. Pellizzari et Jadassohn,

dans les cas difficiles à diagnostiquer, exportaient, à l'aide d'une curette, des fragments de tissu pathologique, sur lesquels ils pratiquaient ensuite les investigations microscopiques, ayant la probabilité de retrouver, avec des résidus de follicule, quelque fragment de poil parasité.

En vue de toutes ces considérations, je pense que les constatations que j'ai pu faire peuvent représenter un progrès dans le champ de la vérification de la diagnose, dans les formes inflammatoires profondes de la peau provoquées par le *Trichophyton*, formes qui souvent, à cause de leur variabilité clinique, peuvent présenter des difficultés diagnostiques qu'un ordinaire examen des poils ne nous consente pas de surpasser.

Naturellement cette nouvelle méthode de recherche n'exclue ni la méthode qu'on emploie habituellement sur le poil, ni l'épreuve des réaction spécifiques aux trichophytines; elle sert plutôt à compléter ces procédés et à les aider dans l'investigation diagnostique.

À côté de cette application des données obtenues, que l'on pourra considérer comme une application pratique, je veux faire remarquer ici la nouvelle connaissance qui vient de s'ajouter à celles que nous possedions déjà dans le champ de la dermatomycose.

Clinique de Dermosyphiligrafie de la R. Université de Sassari.

MAMELI IGINO – **A' propos de la vaccination des lapins contre l'infection expérimentale par bacille du rouget, moyennant de vieilles cultures biliées.**

Dans le but d'atténuer stablement le bacille du rouget, de nombreuses méthodes ont été imaginées jusqu'ici, parmi lesquelles, le procédé du vieillissement des cultures est vraiment digne d'être remarqué.

En effet, M. Sabella avait établi que le bacille du rouget subit, dans les vieilles cultures en bouillon, de profondes modifications morphologiques, et que, parallèlement à l'apparition des formes dites « d'involution », il perderait son pouvoir pathogène envers les petits rat blancs, tandis qu'il donnerait l'immunité aux rats gris.

Ces expériences de M. Sabella ont été ensuite contrôlées et confirmées totalement par M. Schnürer; cet Auteur a affirmé qu'il serait bon de vérifier la valeur immunisante des vieilles cultures employées par M. Sabella, en utilisant, pour cela, le porc.

Mais MM. Rasch, Helm et Cominotti sont parvenus à des résultats opposés.

A' vrai dire, M. Cominotti a obtenu des résultats très encourageants, en employant des cultures en bouillon, sans peptone, et soumises au vieillissement moyennant un séjour en thermostate pendant six mois.

Par contre, M. Lopez y Lopez a affirmé qu'en utilisant des cultures vivantes, agées d'onze mois, on parvient facilement à immuniser les pigeons et les lapins; mais, après avoir inoculé ces cultures dans les animaux, l'injection expérimentale de culture virulente, tue les animaux, mêmes plus souvent qu'elle ne renforce l'immunité qu'ils auraient dû acquerir en vue de l'inoculation précédente.

D'après cet A., cela dépendrait du fait que, lorsqu'on pratique la deuxième inoculation, l'organisme ne s'est pas encore délivré des germes préalablement reçus.

Au contraire, M. Cerruti, toujours dans le but d'atténuer la virulence du bacille du rouget, emploie la bile du boeuf, délayée dans du bouillon simple, dans un pourcentage donné.

En effet, d'après ses travails, qui ont paru dans notre Bulletin (Mai-Septembre 1930) la virulence du germe s'atténue, pour le lapin, lorsque le germe même a été cultivé en bouillon bilié au 25%, et, en outre, l'atténuation augmente proportionnellement dans les successifs repiquages en série, quoique le germe garde de vigoureuses propriétés immunisantes.

Suivant les expériences de M. Cerruti, à partir du 13ème repiquage, les cultures biliées inoculées par la voie intraveineuse, détermineraient une mortalité du 25% chez les animaux traités.

* * *

En partant de ces travaux, nous avons voulu apporter notre contribution au problème de la vaccination du lapin contre l'infection expérimentale par bacille du rouget, problème dont la résolution a passionné et intéresse même à présent nombre de savants, car elle permettra l'intégration pratique chez les porcs. C'est donc dans ce but que avons voulu voir si, lorsque les vieilles cultures en bouillon bilié au 25%, préalablement lavées, sont inoculées par la voie intraveineuse, elles gardent encore une certaine pathogénicité pour le lapin et si, éventuellement, elles sont douées d'une action vaccinante.

Nous nous sommes appuyés sur la constatation faite par M. Cerruti par rapport à la non virulence des cultures biliées inoculées, par la

voie sous cutanée, aux lapins et c'est pourquoi nous avons estimé bon de séparer les germes du milieu nutritif sur lequel ils s'étaient développés, en les soumettant à un lavage énergique à l'aide de la solution physiologique, suivant la technique ordinaire.

Par ce procédé nous avons ainsi évité les faits d'intoxication, déterminés par la bile de boeuf introduite directement dans le sang avec le bacille; intoxication qui, d'après MM. Vulpian et Bouchard, provoquerait chez les lapins une action toxique générale, portant surtout sur le système nerveux et sur les éléments du sang.

Pour nos expériences nous nous sommes servis de la souche du bacille du rouget, marquée par le N. 2 et faisant partie de la collection de notre Institut; depuis le 26 février 1930 cette souche est cultivée en bouillon bilié au 25%.

Aprés 32 repiquages sur milieux biliés, la couche en question a été ensemencée le 2 septembre 1930, dans un ballon contenant 100 cmc. de bouillon bilié au 25%; ensuite on l'a gardée à l'étuve pendant 14 jours, et, après avoir protégé, à l'aide de la paraffine, le capuchon d'ouate afin d'éviter l'évaporation du liquide cultural, on a laissé le tout en repos, à la température du laboratoire.

Les expéiiences sur les animaux ont été initiées le 10 décembre 1931, c'est-à-dire 15 mois environ, après l'ensemencement.

Avant de commencer les différentes épreuves, nous nous sommes assurés de la vitalité des cultures, en pratiquant une transplantation en bouillon simple, ce qui permit de cultiver un bacille typique du rouget, ayant les caractères morphologiques et tinctoriaux normaux.

Les expériences ont été conduites chez 10 lapins âgés de 6-8 mois et ayant un poids moyen de 1350-1550 gr.; ces animaux ont été soumis à l'inoculation de cultures lavées, pratiquée, à de doses variables, dans la veine marginale de l'oreille, suivant la technique habituelle.

Afin d'évaluer le degré d'immunité déterminé par les germes inoculés, les lapins ont été inoculés toujours par la voie de la veine, au bout d'un laps de temps variable, moyennant des doses différentes de cultures en 48 heures, de pleine virulence (ainsi qu'on l'a pu constater chez les témoins), provenant de la souche correspondante, souche dont la dose de 0,50 cmc. inoculés par voie intraveineuse, tue au bout de 5-6 jours le lapin ayant un poids d'énviron 1600 gr.

Les lapins utilisés pour l'expérience, ont été repartis en trois lots: le 1.er lot de 4 lapins a été inoculé moyennant 1 cmc. de suspension bactérienne, tandis que le 2.ème lot et le 3.ème, de trois lapins chacun, ont reçu respectivement 2 et 3 cmc. de la même suspension.

Tous les lapins ont toléré parfaitement la dose injectée; seulement deux des animaux traités avec 3 cmc. de suspension, ont perdu 100 gr. environ de leur poids, tandis que les autres n'ont point souffert à cause de l'inoculation, et leur poids a continué même à augmenter régulièrement.

Les inoculations expérimentales moyennant les cultures virulentes, ont été pratiquées selon le procédé suivant: deux lapins du 1.er lot, deux du 2.ème, et deux du 3.ème ont été inoculés, au bout de 18 jours, avec 1 cmc. de culture virulente, tandis que deux autres lapins appartenant au 1.er lot, un lapin du 2.ème et un du 3.ème lot, ont reçu seulement au bout de 13 jours, 2 cmc. de culture virulente.

Même à la suite de cette sevère inoculation expérimentale, tous les animaux n'ont présenté aucun phénomène digne de remarque, ce que nous avons constaté après un mois et demi environ d'observation.

* * *

Des expériences dont nous avons parlé plus haut, il ressort nettement que tandis que les vieilles cultures biliées, séparées de la bile et du bouillon à l'aide d'un lavage approprié, en solution physiologique, ont totalement perdu leur virulence envers le lapin, même lorsqu'elles sont inoculées par la voie intra-veineuse, elles se montrent douées d'énergiques propriétés vaccinantes contre des doses multiples de la dose moindre assurément létale, de cultures à virulence complète.

En plus, ces résultats confirmeraient les affirmations faites par M. Cerruti, d'après lesquelles la bile de boeuf exerce une considérable action atténuante sur le bacille du rouget; et ils expliqueraient encore le peu de mortalité des lapins, consécutive à l'inoculation de cultures biliées, *in toto*, mortalité qu'on devrait rattacher non pas à la virulence du bacille soumis à l'action de la bile, mais plutôt à une action toxique réalisée par la bile même, lorsqu'elle est introduite directement dans la circulation.

En outre il résulte aussi que, moyennant l'association de l'action de la bile avec le vieillissement des cultures du bacille du rouget, il est possible d'obtenir un produit assurément dépourvu de toute action pathogène et doué, par contre, d'une action énergique et sûre, d'immunisation envers l'infection expérimentale du lapin.

L'atténuation atteinte par le bacille du rouget dans les vieilles cultures biliées serait plus sûre que l'atténuation qui se vérifie dans les cultures en bouillon, soumises à la seule action du vieillissement (Sabella, Schnürer), car cette dernière ne serait pas toujours suffisante à les priver de la virulence (Rasch, Helm, Cominotti).

Nous allons étudier, dans une Note prochaine, s'il est possible de conférer même au porc, un suffisant degré d'immunité contre le rouget en utilisant les cultures biliées soumises au vieillissement, et si l'on peut, par celles-ci, éliminer les inconvénients présentés par les méthodes dont on se sert actuellement pour lutter contre la maladie en question, et qui sont basées sur l'emploi de séıum immunisant et de cultures virulentes.

Station Expérimentale de la Sardaigne pour les maladies infectieuses du bétail - Section de Cagliari.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.

DESSY G. – **Recherches sur l'ultravirus tuberculeux.** Note I.ère: **A propos de la reconstitution " in vivo " et " in vitro " des bacilles acido-résistants, moyennant le filtrat de matériel tuberculeux tué ou vivant.**

A la suite des expériences récentes de M. Petragnani, qui ont été publiées dans ce même Bulletin et que j'ai pu suvire, en partie, personnellement, j'ai voulu instituer une série de recherches, ayant pour but de contrôler et de confirmer les observations faites sur ce sujet, et d'approfondir le mécanisme du phénomène décrit par M. Petragnani, ainsi que d'en établir à peu près les bornes.

Je vais rappeler ici, en résumé, les observations de M. Petragnani (Bulletin de la Section Italienne de la Société Internationale de Microbiologie, 1931, fasc. X et 1932, fasc. I et 2).

En traitant dans un mortier une patine de bacilles tuberculeux avec de l'acide phénique cristallisé, il avait observé que les germes paraîssaient se dissoudre peu à peu, tandis que l'acide phénique se dissolvait par absorption d'eau. Après avoir soigneusement centrifugé, il obtenait un liquide parfaitement clair, dénommé « phénol bactérique » qui, après filtration sur bougie Chamberland L2 et diluition dans de l'eau distillée dans la proportion d'1-2%, donnait lieu à la formation d'un précipité où l'on pouvait mettre en évidence non seulement de différents débrits et des masses acido-résistantes, mais aussi une bonne quantité de bacilles acido-résistants, identiques aux bacilles tuberculeux.

En outre, suivant la technique de van Deinse et en filtrant sur bougie Chamberland L1 et L2 une culture, sur milieu de Sauton, de tuberculose bovine Vallée (préparée d'après la méthode de Valtis), M. Petragnani inoculait le filtrat dans le cobaye, par la voie endo-péritonéale; une partie du filtrat était soumise, avant l'inoculation, au chauffage à 65°, à bain-marie, pendant une heure.

Au cours de deux expériences, l'A. a constaté la présence d'une quantité considérable de bacilles acido-résistants, dans le péritoine des cobayes, autant chez les animaux inoculés moyennant le filtrat chauffé, que dans ceux qui avaient reçu le filtrat non chauffé.

Une partie du filtrat d'une expérience ayant donné un résultat positif, fut gardé à l'étuve pendant 10 jours, après avoir été additionné de l' 1/1000 d' acide phénique: l'inoculation pratiquée chez les cobayes, préalablement préparés suivant la méthode de Van Deinse, donna lieu à la formation de bacilles acido-resistant, dans le péritoine des animaux.

M. Petragnani reussit à provoquer la formation de bacilles acido résistants typiques, même « in vitro », en faisant précipiter le filtrat de

cultures sur milieu de Sauton et d'anatuberculine, moyennant le phosphate disodique et le chlorure de calcium.

Le phénomène de la recomposition bacillaire — toujours d'après M. Petragnani — se produit mieux *in vitro* que *in vivo* et il dépend de la réaction du filtrat.

Moi aussi, j'ai voulu répéter en partie, et en partie étendre, les expériences originales de M. Petragnani, en obtenant un résultat pareillement positif. Voici les résultats de mes recherches:

1) *Phénol bactérique.* — Pour les expériences moyennant le phénol bactérique, j'ai suivi la technique conseillée par M. Petragnani: deux souches de tuberculose humaine sur milieu à l'oeuf, et une souche de tuberculose bovine Vallée sur pomme de terre glycérinée, ont été broyées séparément dans un mortier, contenant de l'acide phénique cristallisé; la plupart des germes semblaient se dissoudre dans l'acide phénique qui se dissolvait et qui laissait un dépôt floconneux, constitué par des débris bacillaires et par des masses bacillaires, partiellement non acido-résistantes.

Ensuite: centrifugation prolongée du phénol bactérique, jusqu'à obtenir un liquide parfaitement limpide; filtration sur bougie Chamberland L1 e L2, préalablement contrôlée à l'aide de l'appareil Petragnani; addition du filtrat dans la proportion de l'1-2% à l'eau distillée, neutre ou légèrement acide.

Il se produisait immédiatement la formation d'un précipité très mince, qui, après avoir été laissé en repos, se recueillait au fond du tube ou bien le long de ses parois; dans ce précipité, l'on pouvait observer en plus d'une certaine quantité de substances amorfes et de débris bacillaires, nombre de bacilles acido-résistants bien conservés, d'autres ayant les bords rongés, et encore plusieurs formes granuleuses, non acido-résistantes.

C'est à la suite d'une alcalinisation, même légère, du liquide phénolé, à l'aide de l'ammoniaque, que le précipité disparaît et que les germes deviennent invisibles; et de même, an additionnant le phénol bactérique à l'eau distillée, légèrement alcaline, on ne provoque plus la formation du précipité et l'apparition des formes bacillaires.

Des recherches sont en cours qui ont pour but d'établir quels sont les composants du bacille tuberculeux qui prennent part au phénomène en question, et éventuellement quelles sont les lois physico-chimiques qui président au mécanisme de la reconstitution bactérienne. Dès à présent je suis à même d'affirmer que, parmi les constituants du germe (acétone-alcool-éthér-solubles) c'est seulement la fraction alcool-soluble qui se dissout dans l'acide phénique, mais qu'il n'est pas possible, à l'aide de cette seule fraction, de provoquer la reconstitution des formes bacillaires;

cette même fraction alcoolique se dissout complètement dans l'eau ammoniacale, ce qui n'arrive pas pour les deux autres fractions.

2) *Reconstitution « in vivo » et « in vitro » de formes bacillaires acido-résistantes par filtrés de cultures de bacilles tuberculeux.* — On ensemence deux souches de b. tuberculeux (souche humaine Guercio et bovine Vallée) dans plusieurs petits ballons contenant du liquide de Sauton au pH 7,2; au bout de 9 jours, à la température de 38°, le milieu est couvert, mais non totalement, par un voile lisse, très léger, semi-transparent. Après avoir prélevé du liquide cultural et ajouté des boulettes de verre stériles et de la solution physiologique dans la quantité de 10 cmc. pour chaque petit ballon, l'on secoue énergiquement dans l'agitateur pendant 10 minutes; puis on recueille le contenu de tous les petits ballons, dans un grand Erlenmeyer et l'on continue à agiter pendant 30 minutes encore.

Le liquide laiteux qui s'est formé, est immédiatement filtré sur bougie Chamberland L1 et L2, à la dépression de 20 cmc. pendant 8 minutes; lorsque la quantité du liquide était telle que la filtration aurait dû se prolonger pour plus de 8 minutes, on remplaçait la bougie par une autre; l'intégrité de l'appareil à filtration était toujours contrôlée à l'aide de l'addition d'une culture récente de bacille prodigieux.

On inoculait une partie du filtrat dans 6 cobayes, par la voie péritonéale, les animaux ayant été préparés 48 heures avant, moyennant l'inoculation dans le péritoine, de cmc. 0,5 de chlorure de calcium au 5% et de 2 cmc. de phosphate disodique au 5%, extemporanément mélangés.

Une deuxième partie du filtrat était précipitée in vitro, moyennant le chlorure de calcium et le phosphate disodique (pour chaque 50 cmc .de filtré l'on ajoutait successivement 1 cmc. de chlorure de calcium au 5% et 4 cmc. de phosphate disodique au 5%)).

Enfin, une troisième partie était chauffée à 65°, pendant deux heures, et inoculée dans le péritoine de 6 cobayes, préparés de la même façon dont j'ai parlé plus haut, à la dose de 10 cmc.

On a fait quatre essais, pour chaque souche. En voici les résultats: Dans le liquide péritonéal prélevé des cobayes scarifiés, on a retrouvé avec un peu de difficulté, 48 et 72 heures après l'inoculation, des groupes de germes acido-résistants identiques aux germes tuberculeux. La quantité la plus élevée de bacilles se trouve dans les amas formés par le liquide préparant; il est facile de rencontrer un groupe de germes dans un point déterminé du préparé, tandis que dans d'autres points, la recherche, même diligente et prolongée, peut n'aboutir à rien. Les résultats n'ont présenté de différence ni pour ce qui se rapporte à l'emploi du filtré chauffé ou non, ni pour le type de la souche utilisée pour l'expérience; pourtant, il n'ont

pas été parfaitement constants, car ce fut seulement dans le 50% environ des épreuves, qu'on atteignit un résultat positif.

Pour le moment, je ne peux pas me rendre compte de la cause des résultats négatifs, mais comme il s'agit de phénomènes physico-chimiques très délicats, il n'y a pas de quoi s'étonner.

L'addition du chlorure de calcium et du phosphate disodique au filtré, provoque « in vitro » une forte précipitation. En apprêtant des préparés à grosse goutte, et en les colorant selon la méthode de Ziehl, on parvient à retrouver constamment des germes acido-résistants dans une quantité suffisante; ces germes sont groupés, parfois ils sont isolés, mais toujours bien formés. Il est préférable de prélever le liquide qui se trouve au point de contact avec le précipité, au lieu de prélever le précipité même, car la quantité considérable de substance saline empêche l'apprêt de préparés appropriés.

D'après le conseil de M. Petragnani il serait aussi bon, lorsqu'on apprête le préparé, d'additionner une goutte de sérum frais de cobaye, afin d'empêcher que les germes se détachent de la lame.

3) *Reconstitution des bacilles acido-résistants par filtrats d'émulsions bacillaires tuberculeuses, traitées moyennant la saponine.*

On émulsionna finement dans un mortier contenant une solution au 20% de saponine (*saponinum purissimum album*), une culture âgée d'un mois, de bacilles tuberculeux humains, en bouillon Belfanti. Après avoir séjourné pendant 10 jours au thermostate, l'émulsion, préalablement délayée avec 4 parties de solution physiologique, fut filtrés sur bougie L1 et L2, à la dépression de 20 cmc., pendant 8 minutes; l'intégrité de la bougie était contrôlée à l'aide d'une culture en bouillon de *b. prodigiosus*, additionnée au liquide à filtrer.

L'on fit précipiter le filtrat moyennant du chlorure de calcium et du phosphate disodique (50 cmc. de filtrat sont additionnés d'un cmc. de chlorure de calcium et de 4 cmc. de phosphate disodique), et l'on favorisa la précipitation, en ajoutant une goutte d'ammoniaque.

L'examen microscopique de la partie superficielle, aussi bien que du précipité, permit de mettre en évidence une quantité suffisante de bacilles acido-résistants, granuleux en partie, mais toujours bien acido-résistants; les germes ne se disposaient jamais en amas, mais ils restaient toujours isolés.

4) *Reconstitution des bacilles tuberculeux par filtrat d'anatuberculine Petragnani.* — On prépara l'anatuberculine suivant la technique décrite par M. Petragnani; et pour ce qui se rapporte à la modalité de cette préparation, je renvoie le lecteur à ce travail (Bollettino Istituto Sieroterapico Milanese, 1927, fasc IV.).

L'anatuberculine est filtrée sur bougie Chamberland L1 et L2 et précipitée moyennant la technique habituelle, à l'aide du chlorure de calcium et du phosphate disodique. La précipitation est favorisée par l'addition d'une goutte d'ammoniaque.

L'examen microscopique du précipité, prélevé dans sa partie la plus superficielle, permet d'observer nombreux bacilles acido-résistants granuleux en partie, réunis en petits groupes, parfois refringents, mais toujours très typiques.

Conclusions. — Des recherches que je viens d'exposer, il ressort:

1) La possibilité que des filtrats de cultures tuberculeuses jeunes, inoculés dans le péritoine du cobaye, préalablement sensibilisé à l'aide du chlorure de calcium et du phosphate disodique, puissent provoquer la formation de formes bacillaires acido-résistantes identiques à celles tuberculeuses.

2) Ces mêmes formes bacillaires acido-résistantes peuvent être obtenues en inoculant dans le cobaye le même filtrat chauffé à 65°, pendant deux heures.

3) La reconstitution des bacilles acido-résistants par le filtrat se produit même « in vitro », par le moyen de la précipitation, à l'aide du chlorure calcique et du phosphate disodique.

4) On peut reproduire ce phénomène « in vitro », même à l'aide de filtrats de bacilles traités moyennant la saponine, ou de filtrats d'anatuberculine Petragnani.

Pour ce qui en est à la nature du phénomène dont il est question, on avance deux hypothèses: ou, — suivant M. Petragnani — on a ici une dissociation du bacille tuberculeux en des mycelles colloïdales extrêmement petites qui, par une précipitation successive, vont se recomposer pour former l'image du bacille acido-résistant; ou bien — suivant M. Zironi — il s'agit d'un phénomène de bactério-phanérose, de sorte que, dans des conditions données, le bacille tuberculeux n'est plus susceptible d'être colorié et il est apte à traverser les parois poreuses des bougies, et, enfin, par des modifications physiques du milieu, il acquiert nouvellement les propriétés de colorabilité.

Pour le moment je ne peux pas donner mon avis à propos de cette question très ardue, exigeant une longue série d'investigations physicochimiques, investigations qui sont en cours d'exécution.

Institut Sérothérapique de Milan. Laboratoires Scientifiques de la Direction.

BATTAGLIA M. – **Eumycète tuberculosis.**

En étudiant et en faisant des expériences sur le Bacille de la Tuberculose, et surtout sur celui de la souche bovine et humaine, j'ai pu sélectionner et stabiliser un Vaccin, qui depuis un an apporte de grands bienfaits dans la cure de la tuberculose humaine dans toutes ses manifestations intérieures et externes.

Ce vaccin possède les propriétés suivantes, expérimentalement contrôlées:

1) il prévient l'infection tuberculeuse chez les cobayes;

2) il produit une réaction allergique chez les cobayes rendus expérimentalement tuberculeux;

3) pour l'homme présentant l'infection tuberculeuse évidente ou cliniquement suspecte, il sert comme « tuberculosis-testis »;

4) il soigne et guérit les cobayes rendus expérimentalement tuberculeux;

5) employé localement, il guérit la lésion tuberculeuse chez les cobayes et celle pathologique de l'homme: c'est-à-dire ce que l'on appelle la tuberculose chirurgicale.

Les vaccins tuberculeux employés de nos jours ne répondent point à ces qualités requises, de même les véritables vaccins, qui sont pourtant faits avec des souches ancestrales du B. T. comme celles de Friedmann et de Müller, etc., et les tuberculines plus ou moins intégrales, appelées à tort vaccins.

J'ai donc pu remarquer, au cours d'observations culturales et dans les préparés microscopiques, que le B. T. possède des caractères qui le différencient nettement des schizomycètes et le font classifier parmi les Eumycètes.

En 1884 Petrone a observé dans le B. T., la dicotomie et il douta de ses caractères comme schizomycète: Metchnikoff, en 1888, affirma nettement qu'il était question d'une Streptotrichée: ensuite Schrön, au cours de ses leçons et de ses démonstrations publiques, démontra, depuis 1893, les différentes phases du B. T. K. et crut déterminer ainsi le microbe de la phtisie. D'autres AA., comme Schultz et Lubarsch, le classifient parmi les Cledotrichées, ou bien parmi les Oosporoses, qui font remarquer l'affinité morphologique du B. T. Kochi avec l'actinomyces.

Un fait est sur, c'est que, même dans les cultures « in vitro », dans des milieux liquides, et surtout dans le bouillon ordinaire à la glycérine, au 5%, la culture du B. T. Kochi se présente tout d'abord comme une

patine très mince qui devient ensuite toujours plus épaisse et, en grossissant continuellement, finit par précipiter au fond du liquide de cultuie.

Dans les frottis, dans les préparés à goutte pendante et même dans les produits pathologiques du B. T. Kochi aussi bien que dans les expectorations, on voit, à l'aide des colorations ordinaires, des formes dicotomiques avec des noeuds ronds ou bien ovalaires le long de l'élément baciliforme et de grosses formes rondes libres: ces formes, qui furent observées par plusieurs AA., sont toutes alcool- acido-résistantes et Gram-résistantes.

La polimorphie du B. T. K. est donc aujourd'hui reconnue et admise par tout le monde, et, sans vouloir se fixer sur les mots Streptotrichée, Cladotrichée, Oosporose, termes que l'on reconnait synonymes, tout le mondé détache le B. T. K. des schizomycètes, pour le rapprocher des Eumycètes.

Il me semble, toutefois, que jusqu'à aujourd'hui personne n'a pratiqué des recherches méthodiques et en séries: ce fait m'a poussé, depuis plusieurs années, à étudier et à coordonner les formes evolutives du B. T. K.

Je suis arrivé à mon but en me servant des méthodes suivantes:

1) En faisant des cultures de B. T. K. sur du bouillon glycériné dans des tubes à sérodiagnostic, à peine l'on aperçoit à la surface la patine de la culture, on tâche de la prendre toute avec le fil de platine, de façon à pouvoir l'observer toute entière et fraiche, à cause de sa petitesse, par immersion homogène.

2) Observer la patine de la culture pour toute son étendue après l'avoir lentement fixée à la flamme et la colorer ensuite avec différentes méthodes et même par celle de Ziehl-Neelsen.

3) L'étudier avec les mêmes méthodes, c'est-à-dire dans des préparés frais et colorés et aussi dans les préparés colorés, traités moyennant la solution acide et ensuite avec l'alcool absolu, en différentes périodes, lorsqu'elle est mince, épaisse et très épaisse: cette patine passe, par degrès, du blanc au blanc-jaunâtre, ensuite au jaune, au jaune-brun et enfin au brun-noir.

4) Couper, en des conditions rigoureusement aseptiques, un petit morceau de la patine épaisse obtenue des cultures du B. T. K. développé, sur du bouillou glycériné, dans de gros ballons, ou bien se servir de la petite patine culturale épaisse développée dans les petits tubes de bouillon glycériné, et traiter avec les méthodes histologiques ordinaires, c'est-à-dire:

a) les fixer lentement dans la série d'alcools, en commençant par la solution plus faible d'alcool à 35° et en arrivant peu à peu à l'alcool absolu: les passer ensuite pour peu de temps dans du xilol, puis dans du xilol et de la paraffine et finalement les inclure dans la paraffine;

b) pratiquer des tranches, au microtome, de 0,010-0,015 mm. (1);

c) coller ces sections, avec les méthodes ordinaires, sur les verres, les paraffiner et en colorer enfin un certain nombre par la méthode Ziehl-Neelsen: en traiter d'autres par la même méthode et ensuite avec la coloration de contraste: d'autres encore avec la méthode Koch-Ehrlich, ou avec celle May-Grünwald-Giemsa, ou bien avec la méthode de Gram.

En étudiant et en observant ainsi les cultures du B. T. K. à de différentes périodes de leur cultures dans du bouillon glyceriné au 5%, on remarque:

1) Que le Bacille de la tuberculose est un élément bacilliforme dont une des phases n'est pas alcool- acido-résistante; ensuite une phase est Gram-résistante, et finalement une phase alcool-acido-résistante.

2) Que cet élément bacillaire est produit dans des tubes d'hyphes qui appartiennent à une colonie; qu'il se manifeste et se développe comme un feutre épais.

3) Parmi ces hyphes tubulaires, formées par une substance hyaline, ou bien, d'une façon plus exacte, par une substance chromophobe, ils existent des filaments qui aboutissent par de gros sporanges oviformes. Les hyphes ont une phase de tubes pleins en produisant un treillis coralliforme: ensuite il se forme, en eux, une substance périphérique amorphe, hyaline, chromophobe, et une substance centrale filamenteuse plus épaisse et chromophile. Cette substance est, au commencement, continue, mais par la suite elle se divise en bâtonnets et plus tard elle forme une granulation très menue.

4) Les sporanges oviformes qui contiennent une substance homogène se colorant, pendant la première période, avec les couleurs basiques et avec celles acides, résiste au Gram et est aussi alcool- acido-résistante, en relation avec la phase de développement et avec l'âge de la colonie, et qui passe ensuite de la phase homogène à une phase où l'on aperçoit une couche périphérique fortement chromophile, une couche moyenne à peine colorée et un corps central plutôt gros et fortement chromophile. Ce corps central, ensuite, se divise en beaucoup de petits corps dont un certain nombre arrive à la limite de la visibilité.

5) D'autres petits corps sortent de corps gros et petits, ronds et oviformes, acidophiles et alcool- acido-résistants dont il a été parlé plus haut.

6) De ces petits corps l'on voit au fur et à mesure se développer les hyphes mycéliaires tubulaires précédemment décrites qui, avec les produits de la division des hyphes tubulaires donnent lieu à un congloméré

---

(1) 10-15 μ.

de formes bacillaires plus ou moins longues: on peut souvent observer, parmi ces formes, d'autres formes dicotomiques.

7) Dans ces hyphes tubulaires et de ces corps oviformes il se produit l'élément bacillaire avec tous les caractères culturaux, tinctoriaux et pathogènes du B. T. K.

8) Les terrains les plus favorables et vraiment eutrophiques de l'Eumycète Tuberculosis, sont les terrains glycérinés.

9) Pour l'étude systématique de l'Eumycète Tuberculosis le terrain plus adapté est le bouillon ordinaire glycériné au 5%. Les terrains spéciaux liquides et solides, qui contiennent des substances colorantes ou bien même de légères traces de substances aseptiques, ne sont point eutrophiques pour l'Eumycète Tuberculosis, mais sont très aptes à la culture de son élément bacilliforme, qui est l'élément plus resistant. Ces terrains qui servent très bien aux recherches cliniques, doivent être laissés de côté pour les recherches systématiques biologiques.

D'après ces faits je ne doute point que le bacille de la tuberculose, découvert par R. Koch, est veritablement un élément bacilliforme d'un Eumycète que l'on peut avec raison appeler Eumycète Tuberculosis. En suivant la méthode décrite plus haut, tout le monde peut se rendre compte, expérimentalement, des phases de l'Eumycète Tuberculosis, car cette méthode est, pour l'étude systématique, supérieure à celle des frottis faits moyennant des cultures sur milieux solides et liquides, et supérieure à celle de l'étude des colonies developpées sur des terrains solides sélectionnés au microtome.

Institut de la 1.ère Clinique Chirurgicale de l'Université Royale de Naples.

BIBLIOGRAPHIE

1. Battaglia M., *Le bacille de la Tuberculose humaine et bovine, sélectionné pour la vaccino-thérapie* (Boll. d. Soc. Intern. di Microbiologia, section italienne, fasc. II, février 1931, pag. 50.
2. Idem, *Méthode de conservation et d'emploi du bacille de la Tuberculose humaine et obvine sélectionné pour la vaccino-thérapie* (Boll. d. Soc. Intern. di Microbiologia, section italienne, fasc. IV, avril 1931, pag. 91.
3. Idem, Actes du Congrès de la Soc. Intern. d. Microb., section italienne, Milan, avril 1931, pag. 292.
4. Idem, Archives et Actes de la Soc. Ital. de Chirurgie: *Cura della tubercolosi chirurgica col vaccino selezionato e stabilizzato.* 38.ème séance, Bari 1931.
5. Coppen Jonez, Central. f. Bakt. u. Paras., 1895, Bd. XVII, S. 70.
6. De Beurmann et Gougerot, *Les nouvelles mycoses* (Paris, Masson & C.ie, Encyclop. Scient. des Aides Mémoires, p. 138).
7. Metschnikoff-Virchow, Archiv, Bd. III, 1888, S. 63.
8. Passe D., *Sulla morfologia e sulla posizione sistematica del B. T. Koch* (Tipogr. e Legat. Cooper., Pavia 1907).
9. Petrone, Atti dell'Accademia Medico-Chirurgica di Napoli, anno 1884.
10. Schrön von O., *Sul microbo tisiogeno e sulla differenza fra tubercolosi e tisi* (Napoli, R. Stabilimento Fr. Giannini e Figli, 1912).

CARPANO M. – **Recherches sur une grave infection par Corynébacterium chez les Chameaux.**

Dans l'attente de voir tout à fait accomplies les recherches sur un Corynébacterium isolé de quelques cas d'une grave affection observée chez les chameaux, ici, en Egypte, nous croyons opportun de publier cette note préventive, avec laquelle nous touchons brièvement au sujet de cette particulière infection et du microrganisme determinant.

Cette maladie, que nous retenons dominante aussi dans d'autres endroits du Continent Africain et Asiatique, bien qu'il résulte qu'elle n'a pas encore été étudiée, spécialement du côté étiologique, se présente chez les dits ruminants sous diverses formes cliniques.

En général elle se manifeste sous l'aspect de *lymphadénie*, avec des localisations glandulaires externes et viscérales, qu'on pourrait dénommer *caséeuses*, et elle est tout à fait semblable à la *pseudo-tuberculose des ovidés.*

Les glandes les plus fréquemment atteintes sont les glandes pectorales. Le cours de cette forme ezt presque toujours chronique.

La même infection peut aussi prendre un aspect de lymphangite avec tendance à la suppuration et à l'ulcération, et aussi de *dermite ulcéreuse* ou *nécrotique*, qui rappellent parfaitement ces formes que nous avons particulièrement observées ici chez les équidés et chez les bovidés.

Le cours de ces dernières formes est presque toujours subaïgu, ou parfois même aïgu.

L'affection en question s'est montrée grandement *diffusive* jusqu'à atteindre, l'un après l'autre, presque tous les chameaux d'une même division.

La *guérison* est difficile soit parce que les rechutes et les récidives sont fréquentes, soit parce que le processus infectieux se répand rapidement et largement dans tout l'organisme, et cette diffusion amène fréquemment l'animal affecté à la mort. Cette particulière maladie est déterminée par un Corynébacterium ayant les caractères généraux *du groupe diphtérique-diphtéroides.*

Le microrganisme spécifique qu'on peut observer presque toujours en très petite quantité dans les exsudats, a été trouvé plusieurs fois par nous mêmes à l'état pur, spécialement dans les lésions initiales et encore clôses.

Sa *morphologie* relative rappelle dans l'ensemble, pour les germes de culture, celle des formes courtes du bacille diphtérique. Ses dimensions sont en effet presque toujours petites et parfois très petites.

Son *polymorphisme* est remarquable, spécialement dans les produits

pathologiques prélevés des malades. En effet, en plus des formes ordinaires cocco-bactériennes et bactériennes, nous remarquons des éléments à cocci, en massue ou en navette, à filaments, parfois ramifiés, et groupées en touffes de grosses formes globulaires, etc. Nous pouvons trouver de tels éléments, soit libres, soit intracellulaires.

Les *caractères culturaux* répondent également à ceux des Corynébacteriums, et plus particulièrement à ceux de certains Diphtéroïdes du type du Preisz-Nocard.

Le germe en question bien qu' *aérobie facultatif*, pousse cependant plus abondamment à la présence de l'air. Il se développe mieux dans les milieux contenant du *sérum* qui est presqu'indispensable dans les premiers ensemencements d'isolement.

Dans le *bouillon ordinaire* et le *bouillon-sérum* le substratum reste limpide, tandis qu'aux parois et au fond des éprouvettes se déposent de petits flocons, et on remarque aussi souvent la présence d'un voile superficiel.

Sur l'*agar* on rencontre la formation de colonies arrondies, grisâtres, à dimensions variables, ayant leur bord plutôt découpé et leur centre en relief.

Dans le lait le développement ne détermine aucune modification du substratum.

Sur la *pomme de terre* le germe pousse en forme de colonies ou d'enduits humides plutôt en relief et de la même couleur du substratum, de sorte qu'elles ne sont pas facilement remarquables.

Aux égards des *propriétés biologiques*, nous avons constaté que certaines souches produisent de très petites quantités d'indol remarquable dans les anciennes cultures.

Pour la *fermentation dans les sucres*, le germe en examen fermente — sans produire des gaz — le glucose, le maltose, le galactose et certaines souches fermentent même le saccharose. Il reste inactif pour le lactose et la mannite.

Le même microrganisme explique en outre une action hémolytique, plus ou moins marquée, sur les érythrocytes du lapin contenus dans les cultures.

Le *pouvoir pathogène* des germes isolés des infections primitives du chameau est très marqué. Moyennant 1 cmc. de culture dans du bouillon de 2-3 jours par inoculation sous-cutanée, on tue le lapin dans 20 heures, et le cobaye dans 40 heures environ.

Le cobaye mâle ayant subi l'inoculation dans le péritoine avec du pus prélevé des lésions des chameaux montre, après bien peu de jours, une périorchite imposante.

Le chien présente une certaine résistance à l'infection. L'inoculation sous-cutanée de culture donne une intense réaction thermique et d'impor-

tantes manifestations locales qui se résolvent presque toujours, bien que graduellement.

Le poulet et le pigeon ont survecu successivement à une inoculation intramusculaire de 1-2 cmc. de cultures préparées dans du bouillon du microrganisme en question.

L'*action pathogène* des germes que nous avons isolés est expliquée en partie par les exotoxines et en partie par les endotoxines relatives. Ces dernières agissent principalement comme des facteurs pyogénétiques.

La prévalence des premières ou des secondes détermine, dans les animaux, naturellement ou expérimentalement infectés, des symptômes et des lésions différentes, et, par cela, très variables.

La constatation que, dans les mêmes microrganismes isolés des cas de récidives chez des chameaux déjà guéris des lésions précédentes, on ne voit plus, comme auparavant, un pouvoir pathogène élevé, de sorte qu'on peut bien indiquer ces germes par l'adjectif de « *modifiés* », est très intéressante. D'ailleurs, cette constatation avait été déjà faite par nous, lors de notre étude sur la *lymphangite ulcéreuse des équidés et la dermite nécrotique des ruminants.*

Les expériences d'immunité croisée active et passive accomplies sur des cobayes, des lapins et des chiens, dans le but de reveler les relations de notre bactérie avec le bacille diphtérique humain ont démontré l'existence d'une certaine affinité entre les deux microrganismes indiqués par une sensible immunité de groupe, qui s'est manifestée par un constant retard de la mort des animaux expérimentés en comparaison des témoins, et, dans un cas, même par la survivance de l'animal immunisé envers la bactérie du chameau et essayé avec le bacille de Klebs-Loeffer. Dans nos recherches nous avons eu soin de ne négliger la *thérapeutique* de cette particulière affection, pas moins que l'*immunisation préventive.*

A cet égard, en plus du traitement chirurgical, on a essayé l'emploi du *neosalvarsan* et de la *trypaflavine* par voie intraveineuse à de fortes doses répetées, et on a employé de même la vaccinothérapie à l'aide de *vaccins anatoxiques* constitués par des cultures *in toto*, convenablement traités à l'aide de la formaline.

Les résultats obtenus jusqu'à présent démontrent que le neosalvarsan et la trypaflavine expliquent une modeste action thérapeutique en rendant plus fluides les exsudats purulents — qui dans des conditions ordinaires sont presque toujours d'une nature caséeuse — et en facilitant ainsi, en quelques cas, le processus de cicatrisation. Les produits mêmes, cependant, n'ont pas reussi à éviter des récidives.

Nous avons obtenu de bien meilleurs résultats par des infections souscutanées répetées de ladite anatoxine, qui ont hâté le processus de régression et de cicatrisation des lésions parfois très grandes, et qui

jusqu'à présent ont empeché le renouvellement des lésions spécifiques chez les chameaux ainsi traités.

En conséquence de ces derniers résultats si promettants nous avons déjà entrepris des expériences d'*immunisation préventives* des quadrupèdes exposés à la contagion; de même nous tâchons d'étendre la même méthode à la *thérapeutique* et à la *prévention* d'autres affections semblables, et surtout de la *lymphangite ulcéreuse* et de la *dermite nécrotique des equidés*, aussi bien que de la *dermite ulcéreuse des ruminants*, qui sont également plutôt répandues dans cette zone.

Ministère de l'Agriculture. Service Vétérinaire.
Le Caire.

DENES G. et M.me DENES R. – **La dissociation biologique et l'agglutination aspécifique (paragglutination) du bacterium coli.**

Dans nos recherches bactériologiques sur les glaces (1) nous avons pu isoler, par hasard, d'une glace à la crème, une souche de Bact. Coli, qui était agglutinée par le sérum antityphique, à un taux élévé. La glace à la crème qui contenait une telle souche à été débitée dans une localité où de nombreux cas de fièvre typhoïde se sont vérifiés. Le germe mentionné présentait toutes les caractéristiques du Bact. Coli typique; il produisait la fermentation du lactose, donnant lieu au développement de colonies rouges sur milieu d'Endo. Mais cette propriété d'être agglutinée par le sérum antityphique nous conseilla de ramener l'attention des Autorités afin de faire suspendre la vente des glaces pour une certaine période de temps.

Pour trouver la raison de cette agglutination aspécifique nous avons institué une série de recherches expérimentales. Même dans des conditions normales le Bact. Coli peut être agglutiné par le sérum antityphique à un taux bas (1/10-1/25).

Dans notre cas on eut une agglutination supérieure au taux de 1/200. Nous étions à connaissance des recherches de Wollmann, qui cultiva le Bact. Coli à la présence du bacille paratyphique et qui put observer, que une telle souche, c'est-à-dire le Bact. Coli, était agglutinée par le sérum anti-paratyphique B. à un taux élevé. Otto et Sukiemikow, signalèrent des observations identiques en cultivant le Bact. Coli à la présence du B. dysentérique de Flexner. Dans nos recherches nous avons employé les souches suivantes:

(1) L'Igiene Moderna, A. XXV, n. 1, 1932.

Une souche de bacille typhique « O S » récemment isolée de l'hémoculture. Une souche de Bact. Coli « S E » isolée des selles diarrhoïques.

Une oese de B. typhique et une autre de Bact. Coli furent ensemencées dans une série de tubes de bouillon simple et glucosé. Après 24 heures on executa le répiquage dans des milieux solides colorés (Endo, Drigalski, Levine). Nous avons ensemencé ensuite des tubes d'agar incliné, moyennant les colonies développées, isolées, tandis qu'avec les cultures des 18 heures nous apprêtions la séroréaction de Widal complète, en nous servant d'un sérum antityphique à titrage élevé.

Les observations morphologiques que nous avons observées sont les suivantes:

Le Bact. Coli isolé du bouillon glucosé où il se développe avec le bacille d'Eberth, présenta les colonies sur les plaques d'Endo colorées par la fucsine, et en plus ridées avec des bouillons irréguliers.

Les colonies du Bacille typhique se présentaient transparentes, incolores, et lisses.

En goutte suspendue le bacille d'Eberth gardait sa grande mobilité et se présentait sous une forme de bâtonnets très courts. Le Bacterium Coli se présentait sous une forme de *filaments très longs*, immobiles (léger mouvement brownien).

Par la méthode de Gram, le Bact. Coli ainsi modifié résistait à la décoloration beaucoup plus que le bacille typhique.

On observait beaucoup plus rapidement la variation du Bact. Coli, dans le milieu glucosé et acidifié (après 24 h.) que dans le bouillon simple, où une telle variation survenait après 48-72 heures.

La contraction ionique (pH) du bouillon glucosé après 48 h. fut de 5,5 c'est-à-dire évidemment acide, tandis que dans le bouillon commun on observait un léger changement du pH 7,5-7.

Le comportement à l'égard du sérum antityphique résultait différent suivant que le Bact. Coli était ensemencé avec le bacille typhique dans du bouillon glucosé ou simple. Le Bact. Coli, développé dans du bouillon glucosé était agglutiné par le sérum antityphique jusqu'au taux de 1/400, tandis que celui développé dans du bouillon simple arrivait à un taux 1/200. Avec la solution de chlorhydrate d'acridine (trypaflavine) suiv. Pampana à l'1/1000 on a pu observer un'agglutination évidente à petits flocons (granulaire).

D'après nos observations et les études de Frendzel er Szymanoskii (1), qui cultivèrent le colibacille à la présence des filtrats du bacille typhique et à la présence du même bacille typhique, il nous résulte que, de cette façon, on obtient la variante « R » du Bact. Coli dans le sens de Arkwright.

---

(1) Centralbl. f. Bact. I Ag. 8, C. XIX, 1931, g. 334.

On obtient une telle variante en de differentes manières: par des moyens chimiques (agar phéniqué, chlorure de lithium); par des moyens biologiques, en développant le germe dans l'immunsérum homologue et en le cultivant à la présence d'autres germes; celle-ci ou bien la sélection, ont été les méthodes dont nous nous sommes servis.

La variante « R » du Colibacille obtenue par d'autres méthodes ne présente pas la propriété d'être agglutinée par le sérum antityphique; la variante « R » que nous avons étudiée, au contraire, en dissociant la souche originale et en la cultivant à la présence du bacille Eberth, acquiert cette interessante propriété. Burnet donna le nom de « phénomène d'entrainement » à cette propriété acquise, et il explique ce phénomène par la présence de substances solubles, diffusibles dans le milieu cultural.

Une telle propriété acquise peut être transmise d'une souche à toute une série de déscendants.

Nous attribuons la formation de la variante « R » à la perte d'un hydrate de carbone hydrophile (Bruce-Withe) qui est présent dans la variante « S », qui rend insensible cette dernière variété envers les sérums agglutinants éthérologues et qui empêche l'agglutination aspécifique.

En résumant: l'isolement de souches (variantes « R ») de Bact. Coli agglutinables à un taux élevé, par le sérum antityphique, peut en certaines circonstances (critériums épidémiologiques) faire soupçonner la présence du B. typhique dans les aliments souillés. Etant connue la grande difficulté d'isoler le bacille typhique lorsqu'il se trouve associé à d'autres micro-organismes, l'agglutinabilité du B. Coli pourra fournir ainsi un orientement précieux.

Laboratoire Provincial d'Hygiène et de Prophylaxie. Section Médico-Micrographique.

DESSY G. – **La chémiothérapie des mycoses.** I. Partie: **Aspergillose.** II. Note: **Expériences "in vivo".**

Dans ma Note précédente (Bulletin de la Société Internationale de Microbiologie, Section Italienne, 1931, fasc. IX) j'ai référé les résultats de mes expériences sur l'action de 51 matières colorantes et de 24 sels métalliques vis-à-vis des mycètes du genre *aspergillus*, *fumigatus*, *niger*, *flavescens* et *orizae*, par rapport au pouvoir d'inhibition envers le dévéloppement cultural et bactéricide « in vitro ».

Je vais exposer dans cette note les résultats obtenus en essayant le pouvoir thérapeutique chez le lapin de ces couleurs et de ces sels métalliques, qui s'étaient démontrés les plus actifs « in vitro ». Les essais avaient été faits seulement envers l'aspergillus fumigatus, un mycète qui est doué d'un fort et constant pouvoir pathogène envers le lapin.

L'infection de l'animal était provoquée par la voie endoveineuse, moyennant l'introduction d' ½ cc. d'une émulsion très diluée de spores. La substance en examen était essayée par l'inoculation, également endoveineuse d' ½ cgr. *pro dose*, répété trois fois à la distance de quatre jours.

On employa pour chaque substance 6 lapins d'un poids à peu près correspondant: deux de ces animaux recevaient l'inoculation endoveineuse de seuls aspergilles, et servaient de témoin, deux recevaient en même temps, l'émulsion aspergillaire et l'inoculation de la prémière dose de la substance en examen; les deux derniers recevaient enfin l'émulsion aspergillaire et quatre jours après ils étaient soumis au traitement chémiéthérapique.

Nous rapportons ici les protocoles des expériences.

Couleur employée: *Kristall-violet.*

Lapin N. 1. — Poids: au début gr. 1720; à la mort gr. 1610. – Inoculation des germes: le 19 octobre 1931; Inoculations de la couleur: 23 octobre 1931, 27 octobre 1931.

Résultat: Il meurt le 29 octobre et à l'autopsie il présente de rares nodules aspergillaires aux reins, et des lésions par pasteurellose.

Lapin N. 2. — Poids: au début gr. 2170: à la mort gr. 2000. – Inoculation des germes: le 19 octobre 1931; Inoculations de la couleur: 23 octobre 1931, 27 octobre 1931, 31 octobre 1931.

Résultat: Il meurt le 3 novembre 1931 et à l'autopsie il présente deux nodules au rein droit et 5-6 au rein gauche, de nature aspergillaire, une pneumonie lobaire au poumon droit, de nature diplococcique.

Lapin N. 3. — Poids: au début gr. 2620: à la mort gr. 2060. – Inoculation des germes: le 19 octobre 1931; Inoculations de la couleur: 19 octobre 1931, 23 octobre 1931, 27 octobre 1931.

Résultat: Sacrifié le 6 novembre 1931 il ne présente aucune lésion de nature aspergillaire.

Lapin N. 4. — Poids: au début gr. 2600; à la mort gr. 2010. – Inoculation des germes: le 19 octobre 1931; Inoculations de la couleur: 19 octobre 1931, 23 octobre 1931, 27 octobre 1931.

Résultat: Sacrifié le 10 novembre 1931 il ne présente pas des lésions de nature aspergillaire.

Lapin N. 5 (Témoin). — Poids: au début gr. 2200; à la mort gr. 1720 – Inoculation des germes: le 19 octobre 1931;.

Résultat: Il meurt le 26 octobre 1926, et à l'autopsie il présente de nombreux nodules aspergillaires au foie, à la rate, aux poumons et aux reins.

Lapin N. 6 (Témoin). — Poids: au début gr. 1805; à la mort gr. 1500 Inoculation des germes: le 19 octobre 1931.

Résultat: Il meurt le 26 oct. 1931 avec des nodules nombreux et diffus au rein, à la rate et aux poumons.

Couleur employée: *Vert brillant.*

Lapin N. 7. — Poids: au début gr. 1610; à la mort gr. 1520. – Inoculation des germes: le 29 oct. 1931; Inoculations de la couleur: 2 nov. 1931, 6 nov. 1931, 10 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 15 novembre sans lésions aspergillaires, sauf un nodule au rein gauche.

Lapin N. 8. — Poids: au début gr. 1960; à la mort gr. 1820. – Inoculation des germes: le 29 oct. 1931; Inoculations de la couleur: 2 nov. 1931, 6 nov. 1931, 10 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 25 nov. 1931 d'une maladie intercurrente sans lésions aspergillaires.

Lapin N. 9. — Poids: au début gr. 2120; à la mort gr. 2000. – Inoculation des germes: le 29 oct. 1931; Inoculations de la couleur: 29 oct. 1931, 2 nov. 1931, 6 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 10 nov. 1931 avec deux nodules aspergillaires au rein droit et un nodule au poumon.

Lapin N. 10. — Poids: au début gr. 1920; à la mort gr. 1820. – Inoculation des germes: le 29 oct. 1931; Inoculations de la couleur: 29 oct. 1931, 2 nov. 1931, 6 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 25 novembre sans lésions de nature aspergillaire.

Lapin N. 11 (Témoin). — Poids: au début gr. 1670; à la mort gr. 1450. Inoculation des germes: 29 oct. 1931.

Résultat: il meurt le 12 nov. avec des lésions diffuses d'aspergillose au rein, au poumon, et à la rate.

Lapin N. 12 (Témoin). — Poids: au début gr. 2330; à la mort gr. 2000. Inoculation des germes: le 29 oct. 1931.

Résultat: il meurt le 10 nov. 1931 par suite d'une aspergillose diffuse.

Couleur employée: *Vert de malachite.*

Lapin N. 13. — Poids: au début gr. 2050; à la mort gr. 1820. – Inoculation des germes: le 28 nov. 1931. Inoculations de la couleur: 21 nov. 1931, 25 nov. 1931.

Résultat: il meurt par suite d'une aspergillose diffuse le 26 nov. 1931.

Lapin N. 14. — Poids: au début gr. 2050; à la mort gr. 1790. - Inoculation des germes: le 18 nov. 1931; Inoculation de la couleur: le 21 nov. 1931, 25 nov. 1931.

Lapin N. 15. — Poids: au début gr. 1950; à la mort gr. 1760. - Inoculation des germes: le 18 nov. 1931; Inoculations de la couleur: 18 nov. 1931, 21 nov. 1931, 25 nov. 1931.

Résultat: il meurt d'une aspergillose diffuse le 26 nov. 1931.

Lapin N. 16. — Poids: au début gr. 2200; à la mort gr. 1980. - Inoculation des germes: le 18 nov. 1931; Inoculations de la couleur: 18 nov. 1931, 21 nov. 1931, 25 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 27 nov. 1931 d'une aspergillose diffuse.

Lapin N. 17 (Témoin). — Poids: au début gr. 2100; à la mort gr. 1820. Inoculation des germes: le 18 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 23 nov. avec des lésions aspergillaires diffuses.

Lapin N. 18 (Témoin). — Poids: au début gr. 2400; à la mort gr. 2080. Inoculation des germes: le 18 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 23 nov. d'une aspergillose diffuse.

Couleur employée: *Violet de méthyle.*

Lapin N. 19. — Poids: au début gr. 2270; à la mort gr. 1980. - Inoculation des germes: le 26 nov. 1931; Inoculations de la couleur: 30 nov. 1931, 3 déc. 1931, 7 déc. 1931.

Résultat: il meurt le 8 déc. 1931 d'une aspergillose diffuse.

Lapin N. 20. — Poids: au début gr. 2150; à la mort gr. 1920. - Inoculation des germes: le 26 nov. 1931; Inoculations de la couleur: 30 nov. 1931, 3 déc. 1931, 7 déc. 1931.

Résultat: il meurt le 10 déc. d'une aspergillose diffuse.

Lapin N. 22. — Poids: au début gr. 1850; à la mort gr. 1720. - Inoculation des germes: le 26 nov. 1931; Inoculations de la couleur: 26 nov. 1931, 30 nov. 1931, 3 déc. 1931.

Résultat: il meurt le 7 déc. d'une aspergillose diffuse.

Lapin N. 23 (Témoin). — Poids: au début gr. 2200; à la mort gr. 2005. Inoculation des germes: le 26 nov. 1931.

Résultat: il meurt le 5 déc. 1931 d'une aspergillose diffuse.

Couleur employée: *Dahlia.*

Lapin N. 25. — Poids: au début gr. 2070; à la mort gr. 1950. - Inoculation des germes: le 15 déc. 1931; Inoculations de la couleur: 18 déc. 1931, 23 déc. 1931, 27 déc. 1931.

Résultat: sacrifié le 6 janvier 1932 il ne présente pas des lésions par aspergillose.

Lapin N. 26. — Poids: au début gr. 2470; à la mort gr. 2230. - Inoculation des germes: le 15 déc. 1931; Inoculations de la couleur: 18 déc. 1931, 23 déc. 1931.

Résultat: il meurt le 27 déc. 1931 avec deux nodules aspergillaires au rein droit et des faits de pneumonie diplococcique.

Lapin N. 27. — Poids: au début gr. 1670; à la mort gr. 1720. - Inoculation des germes: le 15 déc. 1931; Inoculations de la couleur: 15 déc. 1931, 18 déc. 1931, 23 déc. 1931.

Résultat: sacrifié le 22 janvier 1932 en parfaite santé.

Lapin N. 28. — Poids: au début gr. 2390; 3 la mort gr. 2320. - Inoculation des germes: le 15 déc. 1931; Inoculations de la couleur: 15 déc. 1931, 18 déc. 1931, 23 déc. 1931.

Résultat: sacrifié le 22 janvier 1932 en parfaite santé.

Lapin N. 29 (Témoin). — Poids: au début gr. 2420; à la mort gr. 2180. Inoculation des germes: le 15 déc. 1931.

Résultat: il meurt le 23 déc. 1931 d'une aspergillose diffuse.

Lapin N. 30 (Témoin). — Poids: au début gr. 2250; à la mort gr. 1990. Inoculation des germes: le 15 déc. 1931.

Résultat: il meurt le 22 déc. 1931 d'une aspergillose diffuse.

Couleur employée: *Bleu d'alizarine.*

Lapin N. 31. — Poids: au début gr. 2490; à la mort gr. 2190. - Inoculation des germes: le 22 janvier 1932; Inoculations de la couleur: 26 janvier 1932, 29 janvier 1932.

Lapin N. 33. — Poids: au début gr. 2870; à la mort gr. 2620. - Inoculation des germes: le 22 janvier 1930; Inoculation de la couleur: le 22 janv. 1932, 26 janv. 1932, 29 janv. 1932.

Résultat: il meurt le 2 fév. 1932 d'une pasteurellose, en présentant de très rares nodules aspergillaires aux deux reins.

Lapin N. 34. — Poids: au début gr. 2570; à la mort gr. 2340. - Inoculation des germes: le 22 janv. 1932. Inoculations de la couleur: 22 janv. 1932, 26 janv. 1932, 29 janv. 1932.

Résultat: il meurt le 5 février 1932 par pasteurellose sans lésions aspergillaires.

Lapin N. 35 (Témoin). — Poids: au début gr. 1995; à la mort gr. 1810. Inoculation de germes: le 22 janv. 1932.

Résultat: il meurt le 28 janv. 1932 d'une aspergillose diffuse.

Lapin N. 36. — Poids: au début gr. 1920; à la mort gr. 1790. – Inoculation des germes: le 22 janv. 1932.

Résultat: il meurt le 29 janv. 1932 d'une aspergillose diffuse.

Métal employé: *Cuivre* (chlorure) (1)

Lapin N. 37. — Poids: au début gr. 1640; à la mort gr. 1720. – Inoculation des germes: le 5 oct. 1931: Inoculations du métal: 8 oct. 1931, 12 oct. 1931, 16 oct. 1931.

Résultat: sacrifié le 30 oct. 1931 il présente de rares nodules aspergillaires localisés aux deux reins et un troisième au poumon droit.

Lapin N. 38. — Poids: au début gr. 2100; à la mort gr. 1950. – Inoculation des germes: le 5 oct. 1931; Inoculation du métal: comme pour le n. 37.

Résultat: il meurt le 22 oct. 1932 d'une pneumonie diplococcique avec des lésions aspergillaires peu diffuses au rein et à la rate.

Lapin N. 39. — Poids: au début gr. 2250; à la mort gr. 2120. – Inoculation des germes: le 5 oct. 1931; Inoculations du métal: 5 oct. 1931, 8 oct. 1931, 12 oct. 1931.

Résultat: sacrifié le 30 oct. 1931 il ne présente pas de lésions.

Métal employé: Cobalt (Nitrate) et Jode (iodure de potassium). Aucun de ces deux métaux n'a exercé point d'influence pendant le cours de l'infection aspergillaire.

On n'a pas pu expérimenter les sels de cadmium et de mercure, à cause de leur haute toxicité pour le lapin.

Conclusion.

Les expériences « in vivo » dans le lapin expérimentalement infecté moyennant des spores d'aspergillus fumigatus, ont démontré que le Kristallviolet, le vert brillant, le chlorure de cuicre et, dans un degré inferieur la dahlia, sont douées d'un bon pouvoir chémiothérapique, surtout lorsque l'inoculation de ces substances débute en même temps que l'introduction du germe infectant.

Institut Sérothérapique de Milan. Laboratoires Scientifiques de la Direction.

---

(1) Les doses employées pour ce métal et pour les autres on été en raison d' ½ cgr. en poids de métal.

DESSY G. – **La chémiothérapie des mycoses.** II.ème Partie: **Pénicillose.**

Cette troisième communication sur la chémiothérapie des mycoses relate les résultats obtenus « in vitro » par l'action empêchant le développement cultural, et l'action bactéricide d'un grand nombre de substances colorantes et de sels métalliques sur les pénicilles.

Des expériences « in vivo » n'ont point été faites car les *pénicillium* pathogènes pour les animaux font défaut.

Les pénicilles qui furent étudiés étaient quatre et précisément: *penicillium brevicaule*, *penicillium luteum*, *penicillium candidum* et *penicillium Carbone et Cazzamalli.*

Ce dernier n'est point classifié et l'on peut en trouver la description morphologique, culturale et biologique dans la Note « *Studi sulla etiologia della pellagra* » de D. Carbone e F. Cazzamalli, qui parut en 1913 dans la « Rivista Sperimentale di Freniatria ».

Je ne connais aucune publication à propos de l'action des substances colorantes et des sels métalliques sur les pénicilles, excepté un petit nombre de communications qui mettent en évidence l'action oligodynamique de certains métaux sur le développement de ces mycètes.

Voici la description synthétique de mes expériences.

Pouvoir d'inhibition sur le developpement cultural.

Substances colorantes. — L'action d'inhibition sur le développement cultural fut contrôlée en ajoutant au terrain (agar-malt) des quantités progressivement plus fortes de la couleur que l'on étudiait. La couleur était ajoutée stérilement au terrain, et l'on stérilisait une deuxième fois à la vapeur fluente, pendant 10 minutes.

La couleur était additionnée au terrain dans les dilutions suivantes: 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 5000, 1 : 10.000, 1 : 20.000, 1 : 40.000, 1 : 100.000. On prépara aussi des contrôles en ajoutant au terrain de l'eau distillée en quantité correspondante à celle *maxima* de la solution colorante employée. On semait d'après des cultures sur agar-malt de 7 jours, bien sporifiées. Les résultats étaient lus huit jours après l'ensemencement. Toutes ces expériences ont été faites à la température de 20°-25° C.

Les chiffres qui suivent indiquent la dilution de la substance colorante qui empêche totalement le développement des formes.

Groupe du triphénylméthane. — Violet de méthyle (Grübler): Pen. brevicaule 1 : 1000, pen. candidum 1 : 5000, pen. luteum 1 : 1000, pen. Carb. et Cazz. 1 : 500.

Vert brillant (Meister Lucius): pen. brevicaule 1 : 10000, pen. candidum 1 : 2000, pen. luteum 1 : 10000, pen. Carb. et Cazz. 1 : 5000.

Vert de malachite (Grübler): pen. brevicaule 1 : 500, pen. candidum 1 : 1000, pen. luteum 1 : 2000, pen. Carb. et Cazz. 1 : 1000.

Violet Cristal (Grübler): pen. candidum 1 : 2000. Aucune action sur les autres penicilium.

Les couleurs suivantes, appartenant au même groupe ont démontré de ne posséder aucun pouvoir d'inhibition sur le développement: Dahlia (Grübler), Bleu Vittoria (Prato), Violet de gentiane (Grübler), Vert de méthyle (Grübler), Bleu Patent A (Prato), Vert iode (Grübler), Bleu d'aniline (Grübler), Violet de Crésyl (Grübler), Fucsine (Meister Lucius), Bleu de méthyle (Erba), Bleu Lyon (Grübler), Bleu Cotton (Grübler), Vert lumière (Grübler), Crésofucsine (Grübler).

Groupe des azines. — Violet de méthylène (Grübler): pen. brevicaule 1 : 500, pen. luteum 1 : 1000, pen. candidum e pen. Carb. et Cazz. aucune action.

Les couleurs suivantes, appartenant au même groupe, ont démontré de n'avoir aucune action d'inhibition sur le développement: Saffranine (Erba), Rouge neutre (R. A. L.), Induline (Grübler), Rouge de Magdale (Grübler).

Groupe des azo-dérivés. — Aucune couleur de ce groupe n'est active: Vésuvine (Meister Lucius), Bleu brillant Congo (Prato), Erica (Prato), Vert acide (Meister Lucius), Crisophénine (Prato), Écarlate solide diamine (Prato), Crocéïne brillante (Prato).

Groupe des thiazines. — Thionine (Grübler), pen. luteum 1 : 1000, pen. Carb. et Cazz. 1 : 500, pen. brevicaule et pen. candidum aucune action.

Le Bleu de méthylène (Grübler) et le Bleu de toluidine (Grübler), du même groupe, n'eurent aucune action.

Groupe du thiazol. — La « Primalina » (Prato) et le Jaune de thiazol (Prato) furent reconnus inactifs.

Groupe des phtaléines et du pyrène. — Les colorants ci-dessous n'eurent aucune action.

Rodamine G. (Prato), Rodamine S. (Prato), Eosine B. (Grübler), Rosamine acide A. (Prato).

Groupe de l'antraquinone et de l'antracène. — Bleu d'alizarine (Grübler): pen. brevicaule 1 : 1000, pen. luteum 1 : 2000, pen. candidum et pen. Carb. et Cazz. aucune action.

Alizarina viridina (Prato), aucune action.

Groupe des oxyazines. — Le Bleu Capri (Prato), le Bleu brillant crésyl (Grübler), et l'Aurantia (Prato) n'ont aucune action.

Groupe de l'acridine. — La Phosphine (Prato), n'a aucune action.

Groupe du diphénylméthane. — L'Auranine (Prato) et l'Orcéine (Grübler) n'ont aucune action.

Groupe des dérivés de l'indigo. — L'Indigo carmin (Grübler) n'a aucune action.

Les couleurs suivantes se sont aussi démontrées sans action: Jaune de pioktanine (Grübler), Trypanblau (Meister Lucius), Rouge carmin (Grübler).

Metaux.

La technique suivie au cours de ces expériences a été la même que celle décrite pour les substances colorantes. Les pourcentages des dilutions ont été calculés par poids de métal et non par poids de sel. Les chiffres entre parenthèse indiquent donc la quantité de sel correspondant à 1 gramme de métal.

Cuivre. — Sulfate de cuivre (gr. 3,82): pen. brevicaule 1/2000, pen. luteum 1/1000, pen. candidum 1/1000, et pen. Carb. et Cazz. 1/2000.

Chlorure de cuivre (gr. 2,52): pen. brevicaule 1/2000, pen. candidum 1/1000, pen. luteum 1/500, pen. Carb. et Cazz. 1/2000.

Acétate de cuivre (gr. 2,49): pen. brevicaule 1/1000, pen. candidum 1/1000, pen. luteum 1/1000, pen. Carb. et Cazz. 1/1000.

Zinc. — Sulfate de zinc (gr. 2,74): pen. luteum 1/1000, pen. brevicaule, pen. candidum et pen. Carb. et Cazz. aucune action.

Acétate de zinc (gr. 2,40): pen. luteum 1/500, pen. brevicaule, pen. candidum, pen. Carb. et Cazz. aucune action.

Nickel. — Sulfate de nickel (gr. 4,79): pen. brevicaule 1/500, pen. luteum 1/500, pen. Carb. et Cazz., pen. candidum aucune action.

Chlorure de nickel (gr. 4,04): pen. brevicaule 1/1000, pen. candidum 1/500, pen. luteum 1/2000, pen. Carb. et Cazz. 1/2000.

Cobalt. — Chlorure de cobalt (gr. 4,04): pen. brevicaule 1/500, pen. candidum 1/500, pen. luteum 1/1000, pen. Carb. et Cazz. 1/1000.

Nitrate de cobalt (gr. 4,90): pen. brevicaule 1/1000, pen. candidum 1/500, pen. luteum 1/1000, pen. Carb. et Cazz. 1/1000.

Or. — Chlorure d'or (gr. 1,9): pen. brevicaule, candidum, luteum, Carb. et Cazz. 1/500.

Sulfocrysol (gr. 4,00): pen. brevicaule 1/1000, pen. candidum 1/500, pen. luteum 1/1000, pen. Carb. et Cazz. 1/2000.

Alluminium. — Sulfate d'alluminium (gr. 12,3): pen. brevicaule 1/5000, pen. candidum 1/500, pen. luteum 1/500, pen. Carb. et Cazz. 1/1000.

Chlorure d'alluminium (gr. 8,9): pen. brevicaule 1/2000, pen. candidum 1/500, pen. luteum 1/1000, pen. Carb. et Cazz. 1/2000.

Baryum. — Chlorure de Baryum (gr. 1,64): aucune action.
Nitrate de Baryum (gr. 1,9): aucune action.

Cadmium. — Chlorure de cadmium (gr. 1,95): pen. brevicaule 1/500, pen. candidum 1/2000, pen. luteum 1/5000, pen. Carb. et Cazz. 1/1000.
Nitrate de cadmium (gr. 2,75): pen. brevicaule 1/1000, pen. candidum 1/5000, pen. luteum 1/500, pen. Carb. et Cazz. 1/2000.

Molybdène. — Molybdate d'ammonium (gr. 1,9): pen. brevicaule 1/500: aucune action sur les autres pénicillium.

Uranium. — Acétate d'uranium (gr. 1,7): aucune action.

Cérium. — Nitrate de cérium (gr. 3,10): pen. brevicaule, pen. candidum, pen. luteum, pen. Carb. et Cazz. 1/500.

Jode. — Jodure de potassium (gr. 1,30): aucune action.
Jode métallique (comme jodure de potassium): aucune action.

Mercure. — Bichlorure de mercure (gr. 1,35): pen. brevicaule, pen. candidum, pen. luteum, pen. Carb. et Cazz. 1/2000.
Cyanure de mercure (gr. 1,26): pen. candidum 1/40000, pen. brevicaule, pen. luteum, pen. Carb. et Cazz. 1/20000.

Pouvoir bactericide.

Substances colorantes. L'étude du pouvoir bactéricide «in vitro» a été faite en se servant de la technique suivante: on introduisait la substance colorante, diluée dans les proportions voulues avec de l'eau distillée, dans des éprouvettes à centrifuge stériles, et ensuite on la stérilisait nouvellement pendant 10 minutes à la vapeur fluente. On ajoutait ensuite à chaque eprouvette la même quantité d'émulsion de penicillium, provenant de cultures sur agar-malt.

Après les avoir laissées pendant un certain temps à la tempèrature ambiante, on centrifugeait soigneusement les éprouvettes, de façon à ce que tous les germes se déposaient sur le fond. Après l'avoir lavée deux fois avec de l'eau distillée stérile on semait abondamment la partie centrifugée sur de la gélose au malt.

Les dilutions des couleurs dont on se servit furent les suivantes: 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500, 1 : 1000. Les périodes de temps de contact furent de 60′, 6 heures, 18 heures, 24 heures, 36 heures.

Les contrôles faits simplement avec de l'eau distillée et de l'émulsion des penicillium étaient soumis au même traitement. Pour chaque souche de germes on faisait deux épreuves: avec les spores et avec le mycélium seul.

Le mycélium asporigène était obtenu d'après des cultures jeunes sur gélose au malt: les spores, d'après de cultures très vieilles (1 mois).

Les chiffres reportées ci-dessous indiquent les dilutions et les temps limites: on faisait la lecture des résultats huit jours après l'ensemencement.

Voici en schéma les résultats obtenus.

Groupe du Triphénylméthane. — Cristal violet (Grübler): (spores) aucune action; (mycélium): pen. candidum 1 : 200 après 18 heures, pen. brevicaule, pen. luteum, pen. Carb. et Cazz. 1 : 100 après 18 heures.

Vert brillant (Meister Lucius): pen. brevicaule (spores) 1 : 200 après 1 heure (mycélium), 1 : 1000 après 24 heures, pen. candidum (spores) 1 : 100 après 1 heure, 1 : 500 après 24 heures (mycélium) 1 : 200 après 1 heure, pen. Carb. et Cazz. (spores) 1 : 200 après 1 heure (mycélium), 1 : 500 après 6 heures.

Vert de malachite: pen. brevicaule (spores) 1 : 100 après 24 heures, (mycélium) 1 : 100 après 1 heure, pen. candidum (spores) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 24 heures (mycélium), 1 : 200 après 1 heure et 1 : 500 après 6 heures, pen. Carb. et Cazz. (spores) 1 : 100 après 1 heure et 1 : 500 après 36 heures (mycélium), 1 : 200 après 6 heures et 1 : 1000 après 36 heures.

Violet de méthyle (Grübler): pen. brevicaule (spores), aucune action (mycélium), 1 : 100 après 24 heures, pen. candidum (spores) 1 : 100 après 1 heure et 1 : 200 après 24 heures (mycélium), 1 : 100 après 1 heure et 1 : 500 après 36 heures: pen. luteum (spores), 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 24 heures (mycélium), 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 6 heures, pen. Carb. et Cazz. (spores), aucune action (mycélium), 1 : 100 après 6 heures et 1 : 200 après 36 heures.

Aucune des couleurs suivantes, appartenant à ce groupe, a démontré d'avoir vis-à-vis des pénicilles, des propriétés bactéricides « in vitro »:

Dahlia, Bleu Vittoria, Violet de Gentiane, Vert de méthyle, Bleu Patent A, Vert Jode, Bleu d'aniline, Violet de Crésyl, Fuchsine, Bleu de méthylène, Bleu Lyon, Bleu Cotton, Vert lumière, Crésofucsine.

Groupe des azines. — Violet de méthyléne (Grübler): pen. luteum (mycélium) 1 : 100 après 24 heures. Aucune action sur les autre pénicilles.

Les couleurs ci-dessous, appartenant à ce groupe n'ont aucune activité bactéricide: Saffranine, Rouge neutre, Induline, Rouge de magdala.

Groupe des azodérivés. — Pas une des couleurs de ce groupe ne possède des propriétés bactéricides: Vésuvine, Bleu brillant Congo, Erica, Vert acide, Crysophénine, Ecarlate solide siammine, Crocéine brillante.

Groupe des thiazines. — Thionine (Grübler): pen. luteum (mycélium) 1 : 100 après 18 heures. Aucune action sur les autres pénicilles.

Le Bleu de méthylène et le Bleu de toluidine du même groupe n'ont aucune activité bactéricide.

Groupe du thiazol. — La Primuline et le Jaune Thiazol ont démontré d'être inactifs.

Groupe des Phtaléïnes et du pyrone. — Les colorants qui suivent se sont démontrés inactifs quant au pouvoir bactéricide: Rhodamine G, Rhodamine S, Eosine B, Rosamine acide A.

Groupe de l'anthraquinone et de l'anthracène. — Bleu d'alizarine (Grübler): pen. luteum (mycélium) 1 : 1000, après 18 heures, pen. brevicaule (mycélium) 1 : 100 après 36 heures.

L'Alizarine viridine de ce même groupe est inactive.

Groupe des oxyazines. — Le Bleu Capri, le Bleu brillant crésyl et l'Aurantia, n'ont aucune action bactéricide.

Groupe de l'acridine. — La Phosphine ne possède aucune action bactéricide.

Groupe du diphénylméthane. — L'Auranine et l'Orcéine n'ont aucune action.

Groupe des dérivés de l'indigo. — L'Indigo carmin ne possède aucun pouvoir bactéricide.

Les colorants qui suivent ne possèdent de même aucun pouvoir bactéricide: Jaune de pioktamine, Trypanblau, Rouge carmin.

Metaux.

La technique suivie pour la détermination du pouvoir bactéricide des métaux est la même qui fut employée à propos des substances colorantes. Le pourcentage des dilutions est calculé en se basant sur le poids du métal et non sur celui du sel.

Cuivre. — Sulfate de cuivre (gr. 3,82): pen. brevicaule (mycélium) 1 : 100 après 24 heures, pen. Carb. et Cazz. (mycélium) 1 : 100 après 18 heures, pen. candidum et pen. luteum, aucune action.

Chlorure de cuivre (gr. 2,52): pen. brevicaule et pen. Carb. et Cazz. (mycélium) 1 : 100 après 24 heures, pen. candidum et pen. luteum aucune action.

Acétate de cuivre (gr. 2,49): aucune action.

Zinc. — Sulfate de zinc (gr. 2,74): aucune action.

Acétate de zinc (gr. 2,40): aucune action.

Nickel. — Sulfate de nickel (gr. 4,79): aucune action.

Chlorure de nickel (gr. 4,04): pen. luteum et pen. Carb. et Cazz.

(mycélium) 1 : 100 après 24 heures, pen. brevicaule et pen. candidum: aucune action.

Cobalt. — Chlorure de cobalt (gr. 4,04): aucune action.
Nitrate de cobalt (gr. 4,90): aucune action.

Or. — Chlorure d'or (gr. 1,9): aucune action.
Sulfocrysol (gr. 4,00): aucune action.

Alluminium. — Sulfate d'alluminium (gr. 12,3): pen. brevicaule (spores) 1 : 100 après 18 heures (mycélium), 1 : 100 après 6 heures. Aucune action sur les autres pénicilles.
Chlorure d'alluminium (gr. 8,9): aucune action.

Baryum. — Chlorure de baryum (gr. 1,64): aucune action.
Nitrate de baryum (gr. 1,9): aucune action.

Cadmium. — Chlorure de cadmium (gr. 1,95): aucune action.
Nitrate de cadmium (gr. 2,75): pen. candidum et pen. Carb. et Cazz. (mycélium): 1 : 100 après 18 heures. Aucune action sur les autres pénicilles.

Molybdène. — Molybdate d'ammonium (gr. 1,9): aucune action.

Uranium. — Acétate d'uranium (gr. 1,7): aucune action.

Cérium. — Nitrate de cérium (gr. 3,10): aucune action.

Jode. — Jodure de potassium (gr. 1,30): aucune action.
Jode métallique (comme jodure de potassium): aucune action.

Mercure. — Bichlorure de mercure (gr. 1,35): pen. brevicaule (spores), 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 24 heures (mycélium) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 6 heures; pen. candidum et pen. luteum (spores), 1 : 200 après 1 heure et 1 : 500 après 18 heures (mycélium) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 24 heures: pen. Carb. et Cazz. (spores) 1 : 200 après 1 heures et 1 : 1000 après 18 heures (mycélium) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 100 après 6 heures.

Cyanure de mercure (gr. 1,26): pen. brevicaule et pen. Carb. et Cazz. (spores) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 500 après 6 heures (mycélium) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 18 heures: pen. candidum (spores) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 18 heures (mycélium) 1 : 500 après 1 heure et 1 : 1000 après 6 heures, pen. luteum (spores) 1 : 100 après 1 heure et 1 : 500 après 18 heures (mycélium) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 500 après 6 heures.

Conclusions.

Nous avons étudié le pouvoir d'inhibition sur le développement des cultures et le pouvoir bactéricide « in vitro » (soit pour les spores, soit pour le mycélium) de 51 substances colorantes et de 24 sels métalliques

sur les mycètes du genre *penicillium*; brevicaule, candidum luteum et Carbone-Cazzamalli.

Les substances colorantes qui possèdent un pouvoir d'inhibition très actif sur le développement cultural sont les suivantes: Vert brillant (1 : 10000 — 1 : 2000), violet de méthyle (1 : 5000 — 1 : 500), vert de malachite (1 : 2000 — 1 : 500), bleu d'alizarine (1 : 2000 — 1 : 1000), cristal violet (1 : 2000 pour le seul penicillium candidum).

Parmi les sels métalliques les plus actifs sont les suivants: cyanure de mercure (1 : 40000 — 1 : 20000), bichlorure de mercure (1 : 20000), nitrate de cadmium (1 : 5000 — 1 : 500), sulfate d'alluminium (1 : 5000 — — 1 : 500), et quelques autres, mais d'une façon moins prononcée.

Pour ce qui en est du pouvoir bactéricide « in vitro » les mêmes colorants et les mêmes sels métalliques cités ci-dessus, ont démontré d'avoir une certaine activité, mais toujours assez peu prononcée.

On peut en conclure que tous les mycètes du genre penicillium sont très résistants « in vitro », à l'action des substances colorantes et des sels métalliques.

Institut Sérothérapique de Milan. Section Scientifique.

MASERA E. – **Filtration rapide des terrains à l'agar-agar.** Note technique.

Une des plus grandes difficultés que l'on rencontre dans la préparation du terrain solide de culture à l'agar-agar c'est de l'obtenir clair et transparent. On n'obtient que rarement un beau terrain et il faut que celui qui le prépare y mette beaucoup de patience. La difficulté à vaincre est représentée par la filtration, car le milieu devient solide à une température assez haute (à l'état de sur-fusion jusqu'à 40°), et par la lenteur de cette opération qui semble être en rapport inverse avec la limpidité du milieu. Les AA. qui se sont intéressés de cette question, ont proposé de différentes méthodes, plus ou moins ingénieuses, pour obtenir une filtration rapide: ces méthodes, chimiques et physiques, ont des valeurs pratiques variables.

Il faut que les opérations ne modifient pas, chimiquement, le milieu, et n'en altèrent point les propriétés. Il faut donc abandonner les méthodes chimiques (Besson) et l'usage prolongé des traitements par la chaleur.

D'autres systèmes ont été proposés: la filtration avec un entonnoir chaud (très longue), à travers de l'ouate hydrophile (terrain trouble et perte d'une forte quantité du produit); le filtre Karlinski qui est peu pratique; la solidification du milieu dans un entonnoir en enlevant à l'aide d'un

couteau la partie supérieure du cône (terrain trouble); centrifugation (Haegler); filtration à travers du sable (Jokote et Paul) et celle en autoclave à la vapeur fluente (trop longue).

En vue de ces difficultés, j'ai tâché d'unir les deux méthodes suivantes: celle d'Aperlo citée par Abba, et celle de Dop et Gautier. La première se fonde sur l'aspiration du terrain liquide chaud à travers de la ouate, dans un récipient où l'on a fait le vide; la deuxième sur la filtration à pression dans un autoclave.

Le résultat obtenu a été si satisfaisant, soit à cause de la rapidité de l'operation, soit pour la limpidité du produit, qu'il me semble bon de le conseiller à tous ceux qui doivent préparer ce terrain.

On monte sur un ballon de verre résistant, ayant un col plutôt long, un entonnoir fixé à travers un bouchon en gomme. La capacité du ballon et de l'entonnoir sont en rapport avec la quantité du milieu à préparer: il est même nécessaire que la capacité de l'entonnoir soit supérieure au volume du terrain. On prépare à l'intérieur de l'entonnoir, un filtre de papier à plis, non trop épais mais suffisamment résistant. On dispose l'appareil à l'intérieur d'un autoclave, en le maintenant fixe à l'aide d'un support et on verse, dans le filtre, le terrain chaud après avoir dissout l'agar, l'avoir clarifié et en avoir examiné l'alcalinité. Sur l'entonnoir on dispose une plaque en verre, de façon à le couvrir totalement et on ferme ensuite l'autoclave. Au commencement on ne pousse pas le chauffage, et par la suite on maintient la température à 110°-115° pendant 20 minutes. Après ce laps de temps on laisse tomber la température quelques degrès au dessous de 100° et on ouvre lentement le robinet jusqu'à entendre le souffle de l'air qui entre.

Lorsque l'équilibre entre la pression intérieure et celle extérieure est établi, on sort l'appareil de l'autoclave et si l'opération a été faite selon les règles, tout le terrain aura filtré dans le ballon sans aucune perte, et il se présentera très clair.

Il faut remarquer aussi, qu'en ajoutant de la gélatine pour permettre ensuite au terrain de se fixer au parois des éprouvettes, l'opération ne réussit pas avec la même facilité que lorsqu'on opère avec du milieu de agar-agar pur.

Il est possible de retarder la distribution du terrain dans les éprouvettes en préparant un bouchon d'ouate stérilisée (enveloppé dans du papier et séché dans une étuve), que l'on substitue rapidement au bouchon et à l'entonnoir enlevés, après avoir passé une flamme sur le col du ballon et sur la ouate.

Il me semble qu'avec certaines modifications il soit possible de se servir de cette méthode pour la filtration des terrains à la gélatine et à la séricine.

Station Royale de Bacologie Expérimentale de Padoue.

MASSIMELLO F. – **Les équilibres des défenses immunitaires de l'organisme.** Note: **Infection expérimentale par staphylocoque dans le cobaye à régime avitaminique.**

Je me suis proposé, par ce travail faisant partie d'un ensemble de recherches commencées dans ce même Laboratoire par plusieurs chercheurs, d'étudier les réactions immunitaires humorales et des tissus du cobaye maintenu à un régime avitaminique, vis-à-vis de l'infection expérimentale par staphylocoque.

J'ai pris en considération les éléments suivants:

1) Distribution des germes injectés dans le sang et dans les différents organes (rein, foie, rate, muscle, peau, ovaire, mamelle, capsules surrénales, coeur, utérus, placenta).

2) Formule leucocytaire.

3) Index phagocytaire du sang.

4) Pouvoir agglutinant du sérum par rapport au staphylocoque injecté.

5) Pouvoir bactéricide du sang et de l'extrait des différents organes, vis-à-vis du staphylocoque injecté.

6) Index opsonique du sérum et des différents extraits d'organes.

7) Dosage des lipoïdes dans le sérum de sang, moyennant la méthode physiologique de l'inhibition de l'hémolyse, par la saponine.

8) Etude histologique des réactions histiocytaires du système réticulo-endothélial des différents organes.

J'ai employé, comme agent infectieux une souche de *stafilococcus piogenus albus* ayant une virulence très modérée (souche *c* du Laboratoire) et comme animal d'expérience le cobaye, maintenu à un régime avitaminique par suite de l'alimentation à base de foin autoclavé.

Les expériences ont été répétées avec des cobayes normaux infectés, en même temps qu'avec des cobayes non infectés. Pour ce qui en est à la modalité de la technique employée, je renvoie le lecteur au travail de M. Cuizza (Giornale di Batteriologia e Immunologia, Vol. VII, N. 7, 1931).

Expériences. — Les germes dont je me suis servi pour les injections expérimentales, ne restent pas longtemps dans le courant sanguin; ils disparaissent presque toujours au bout de 48 heures, et l'on ne remarque pas de différences considérables entre les cobayes à régime avitaminique et les témoins normalement alimentés. Pour ce qui se rapporte à la distribution des germes dans les différents organes l'on constate qu'ils s'y en-

tassent bientôt, de sorte que seulement quelques heures après l'inoculation on en rencontre une quantité remarquable dans tous les organes où ils demeurent assez longtemps, surtout dans le foie, dans la rate, la peau, les reins et où l'on peut les rencontrer même quatre jours après l'inoculation. Cela se vérifie notamment chez les cobayes maintenus en état d'avitaminose, plutôt que chez les animaux à régime normal.

Quant à l'index phagocytaire du sang, il est, en général, plus élevé chez les témoins que chez les cobayes à régime avitaminique; soit chez les uns que chez les autres, on remarque, dans les premières 24 heures, une augmentation transitoire de l'index, augmentation qui est liée à l'infection expérimentale et qui, dans les cobayes en état d'avitaminose, est pourtant moins évidente et plus tardive. A cette augmentation correspondent un certain degré de neutrophylie et un déplacement à droite de la formule d'Arneth.

Les valeurs de l'index opsonique du sang sont bas et irréguliers; on remarque, même pour ceux-ci, une légère augmentation due à l'infection, mais ici le phénomène apparait plus tard.

Le pouvoir bactéricide du sang, ne présente lui-aussi, rien de particulier et il reste généralement plus bas, avec une tendance à se montrer tardivement et jamais dans une proportion qui mérite d'être remarquée.

On constate des réactions tardives et plutôt négligeables, au dépens des organes, pour ce qui se rapporte soit au pouvoir bactéricide, soit au pouvoir opsonique. Il parait que parmi tous les organes, la peau présente un réveil relativement plus évident des défenses immunitaires.

En général, les données histologiques confirment l'insuffisante aptitude de réaction de l'organisme en état d'avitaminose. Les réactions histiogènes se montrent plus intenses au dépens du foie et de la rate; il s'agit ici d'une augmentation du volume et même du nombre des éléments du réticulum endothélial. On observe cela avec plus d'évidence dans le foie, au dépens des cellules de Kupfer. Mais, en général, les réactions se développent dans une proportion plus petite, en comparaison de celle qu'on peut constater chez des cobayes simplement infectés.

Enfin, pour ce qui regarde le taux cholestérinique du sang, je n'ai pas obtenu des résultats constants et tels à pouvoir m'autoriser à en tirer des conclusions définitives; j'ai observé, parfois, une légère augmentation, mais tout à fait transitoire.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin - Laboratoire de Recherches Scientifiques de l'Hôpital Maria Vittoria.

MORI NELLO – **Ma méthode de coloration très rapide, à froid, du bacille tuberculeux.**

En 1931 je proposai, pour la coloration du bacille tuberculeux dans les matériels pathologiques, une méthode qui pour sa rapidité d'exécution, pour la sûreté de ses résultats et pour la clarté des préparés qu'on en obtient, me parut préférable à toute autre proposée jusqu'à présent (1).

Bien qu'elle soit derivée d'une série de recherches sur le noyau des bactéries, que j'ai achevées en 1912 (2) cette méthode se fonde essentiellement sur celle de Ziehl: la différence consiste dans le titrage des substances composant la fuchsine carbolique, dans le titrage de la solution décolorante, aussi bien que de la coloration de contraste, dans le temps pendant lequel on fait agir les différentes solutions, et enfin parce que tout le procédé est exécuté à froid.

La fuchsine carbolique qu'on emploie est composée de: fuchsine rubis: gr. 0,50 d'alcool absolu, gr. 10 d'acide phénique pur, gr. 2,50 d'eau distillée gr. 100 (3). On pratique la différenciation par une solution d'acide sulfurique à l'1 : 100. On obtient la coloration de contraste par une solution de bleu de méthylène à l'1 : 4000.

Le procédé complet peut être executé en peu plus d'une minute. On colore à froid les lamelles préparées comme d'habitude, à l'aide de la fuchsine carbolique, pendant 10″-15″; on lave le préparé; on fait agir la solution d'acide sulfurique pendant 10″-15″; on lave de nouveau: on colore le fond avec une solution de bleu de méthylène pendant 10″-15″; on lave encore; on sèche; on monte. On peut obtenir la différenciation et la récoloration du fond, même en un seul temps, comme pour le procédé de Gabbet, en employant une solution composée d'acide sulfurique pur, gr. 1,50; de bleu de methylène, gr. 1,50; d'eau distillée gr. 100; on fait agir cette solution pour tout le temps à peu près pendant lequel dure le contact avec la fuchsine carbolique.

Soit moyennant le premier, qu'au moyen du deuxième procédé, j'obtins des résultats constants bien que parfois je ne me sois pas expressement tenu strictement aux temps établis. Pour cela donc j'estime que la méthode que j'ai proposée peut substituer avec quelques avantages

---

(1) N. Mori, *Méthode très rapide pour la coloration du bacille tuberculeux.* (Riforma Medica, XXXIX An., N. 43, 1913).

(2) N. Mori, *Au sujet d'une nouvelle bactérie pathogène et de beaucoup d'autres bactéries dans lesquelles peut se provoquer l'individualisation d'un noyau typique.* (Ann. Staz. Sper. Malat. Infett. Best., Vol. I, 1911-1913, pag. 265-323. Avec une figure dans le texte et avec six microphotographies).

(3) La fuchsine carbolique, d'après la formule donné, peut être substituée par le liquide de Ziehl, à moitié dilué avec de l'eau distillée.

les méthodes qu'on emploie habituellement, pour l'examen bactérioscopique des matériels pathologiques suspects tuberculeux.

En 1926 Mr. Rolando (1) a contrôlé ma méthode, d'après le procédé en trois temps et la variante en deux temps, en la comparant avec les classiques méthodes de Ziehl-Neelsen et de Gabbet. Il a inspecté dix milieux microscopiques appartenant à chaque préparé exécuté avec chacune des méthodes comparées, en se servant de la tablette mobile, et il a compté les bacilles colorés rencontrés dans les milieux mêmes.

Les matériels pathologiques qu'il a soumis à l'examen, ont été: des crachats; des crachats mêlées au sang: des matériels hémophtoïques, et des glandes tuberculisées, après leur homogénéisation, moyennant de l'antiformine ou du chlorure d'ammonium (Arena); des urines de malades affectés de tuberculose renale (diagnostiquée à l'aide de l'examen clinique cistoscopique, de la fonctionnalité rénale et moyennant l'essai biologique) et dans lesquelles l'examen bactérioscopique de comparaison a été fait par la méthode de Ziehl d'après le procédé conseillé par Bezançon.

Quant à ce qui se rapporte aux crachats, M. Rolando réfère que la méthode de Mori n'a montré aucune infériorité en comparaison des méthodes classiques de Ziehl-Neelsen et de Gabbet: au contraire elle a mis en évidence, au cours de différentes observations un plus grand nombre de bacilles tuberculeux: et dans quelques cas enfin, tandis que d'autres méthodes avaient donné un résultat négatif, celle de Mori permit le diagnostic de la tuberculose.

Dans les crachats mêlés avec du sang, dans les matériels hémophtoïques et dans les glandes tuberculisées, la méthode de Mori, ainsi que affirme M. Rolando, a mis en évidence un plus grand nombre de bacilles tuberculeux et dans un cas de matériel hémophtoïque elle a permis le diagnostic, tandis que les méthodes de Ziehl-Neelsen et de Gabbet avaient donné des resultats négatifs. La méthode Mori lui a donné de très bons résultats, même pour la recherche du bacille de Koch dans les urines.

M. Rolando fait justement remarquer l'importance pratique des données qu'il a obtenues spécialement à l'égard des crachats ensanglantés des matériels nettement hémophtoïques et des urines, car on connait très bien la difficulté de démontrer, dans de tels matériels, la présence du bacille de Koch.

En concluant il affirme que la méthode de Mori, pas seulement pour la sûreté des résultats qu'elle donne, mais aussi pour la rapidité et pour

---

(1) F. Rolando, *Sur la méthode Mori pour la coloration très rapide du bacille tuberculaire dans le matériaux pathologiques*. (Rass. Intern. di Clinica e Terapia, Anno VII, N. 11, 1926).

la simplicité avec laquelle on peut l'exécuter, et enfin parce qu'elle élimine la coloration à chaud — conditions, celles-ci, qui contribuent à rendre plus facile son emploi, vis-à-vis d'autres exigeant une plus grande finesse et des aptitudes techniques — mérite un emploi plus étendu dans la diagnostique de laboratoire.

Après les recherches de M. Rolando, ma méthode a été mise en comparaison avec d'autres plus récemment proposées, y étant comprises les méthodes moyennant les couleurs violets.

Les résultats comparatifs obtenus, lui ont conféré toute préférence. J'ai donc cru opportun de devoir attirer encore une fois l'attention sur elle.

RESUMÉ. — L'auteur attire l'attention sur sa méthode de coloration très rapide à froid, du bacille tuberculeux, proposée dès 1913, méthode qui permet d'obtenir des résultats supérieurs à ceux qu'on obtient avec les autres procédés, surtout aux égards des crachts ensanglantés, des matériels hémophtoïques et des urines.

Institut de Microbiologie. Portici.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. ZIRONI.

QUARTO CONGRESSO DELLA SEZIONE ITALIANA DELLA SOCIETA' INTERNAZ. DI MICROBIOLOGIA

MILANO - OTTOBRE 1932 - X

Il IV Congresso Italiano di Microbiologia avrà luogo in Milano presso l'Istituto Sieroterapico Milanese, nella prima settimana dal prossimo ottobre.

I temi prescelti sono:

Le dissociazioni microbiche. Relatore Prof. Gianni Petragnani.

L'immunità locale. Relatore: Prof. Giuseppe Mariani.

I microbi del terreno e la fissazione dell'azoto atmosferico. Relatore: Prof. Gino De Rossi.

Sarà inoltre svolto il seguente argomento all'ordine del giorno:

Le encefaliti postvacciniche. Relatore: Prof. G. B. Allaria.

La presidenza della Sezione Italiana ha invitato alcuni illustri studiosi stranieri a partecipare al Congresso Italiano. È assicurato l'intervento dei Prof. Neuberg, Sachs e Ramon i quali terranno delle conferenze con ogni probabilità sui seguenti temi:

Prof. C. Neuberg (Direttore del Kaiser Wihelm Institut für Biochemie di Berlino): *Le condizioni chimiche ed energetiche nella scissione e trasformazione degli idrati di carbonio per opera di varie cellule e dei loro fermenti.* Con dimostrazioni sperimentali.

Prof. H. Sachs (direttore del Institut für Krebsforschung di Heidelberg): *Un venticinquennio di sierodiagnosi della sifilide.*

Prof. Ramon (del Institut Pasteur di Parigi): *Essai sur l'immunité antitoxique, la constitution et l'origine des antitoxines.*

Durante il Congresso saranno permesse comunicazioni, che trattino esclusivamente argomenti di relazione. La Segreteria della Società si riserva di non accettare quelle comunicazioni che a suo insindacabile giudizio non rispondano a questa condizione.

Le comunicazioni dovranno pervenire alla Segreteria della Sezione non oltre il 1° settembre 1932, essere dattilografate e redatte in lingua italiana o francese. Saranno inesorabilmente respinte quelle comunicazioni che pervenissero alla Segreteria dopo tale data.

I titoli delle varie comunicazioni saranno accettati a partire dalla pubblicazione del presente programma e fino al 15 agosto 1932.

Potranno fare comunicazioni anche studiosi stranieri purchè in lingua italiana o francese.

Una seduta del Congresso sarà dedicata al Comitato Italiano per lo studio dei gruppi sanguigni, che terrà in tale occasione la sua solita riunione.

Sarà discusso il seguente tema:

Gruppi sanguigni e costituzione fisica. Relatore: Dott. DOMENICO VIOLA.

Sono accettate sull'argomento anche delle comunicazioni, per le quali vigono le stesse norme che regolano le altre comunicazioni.

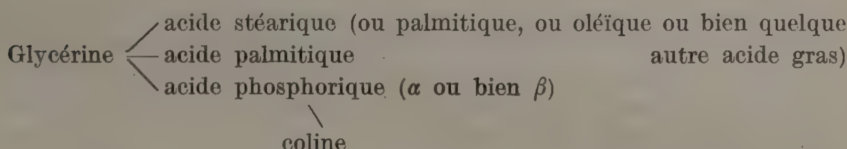
La quota di iscrizione al Congresso è fissata in Lit. 25 e dà diritto al Volume degli « Atti » e a tutte le facilitazioni che la Segreteria riuscirà ad ottenere.

Per ulteriori informazioni rivolgersi ai Segretari: Prof. C. ARNAUDI e Prof. G. DESSY.

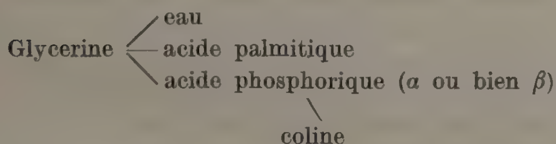
CUBONI E. – **Nouvelles recherches sur l'action toxique de la lysocithine et du poison des serpents.**

Parmi les différents enzymes dont on a démontré la présence dans le poison des serpents (ferments qui produisent la coagulation du sang ou bien du lait, ferments qui ont une action diastasique, ou bien protéolytique ou lypolytique) celui qui a attiré d'une façon particulière l'attention des savants est la *lécithinase* qui est un ferment qui provoque la scission de la lécithine et en fait dériver une substance — la lysocithine — dont la constitution chimique est bien définie et laquelle est douée d'un pouvoir cytolytique assez prononcé et surtout d'un remarquable pouvoir hémolytique.

Au point de vue chimique l'action de la lécithinase peut être reproduite schématiquement de la façon suivante: parmi les différentes lécithines qui existent en nature — et cette différence est due au type des radicaux des acides gras qui font partie de leurs molécules — celles qui peuvent être décomposées par la lécithinase du venin des serpents ont la structure suivante:



L'action de la lécithynase produit — pour chaque molécule de lécithine — l'élimination d'une molecule d'acide gras, et la formation d'une substance cristallisable dont la structure est la suivante:



Cette substance est précisément la lysocithine (anhydride de l'esther mono-palmito-phosphoglycerique de la coline).

Ce qui caractérise la lysocithine est son action cytolytique, qui lui permet de dissoudre non seulement les globules rouges de différentes espèces d'animaux (cette action arrive même à la dilution d'1/30.000 pour les globules rouges de mouton), mais aussi d'autre éléments cellulaires de différente nature, comme les leucocytes, les cellules d'organes

parenchymateux, le tissu nerveux du système nerveux central, les tissus des têtards de grenouille qui deviennent sémi-transparents.

La lysocithine produit « in vivo », comme il a été démontré par des expériences sur des chiens et sur des lapins, une action hémorragique très prononcée dont la caractéristique initiale est l'hémorragie capillaire.

Les rapports entre la lysocithine et les syndrômes de la morsure des serpents ont été particuliérement étudiés par M. Belfanti: d'après cet A. dans les individus qui ont été mordus par des serpents, « la mort ne doit « pas être attribuée à l'action directe du poison contenant une neuro- « toxine particulière, mais serait provoquée par la phosphatidase qu'il « contient, et qui venant en contact avec la lécithine de certains tissus « produirait — in vivo — la formation de lysocithine ».

Le fait que Belfanti a démontré, c'est-à-dire que le poison de serpent inoculé sons la dure donne lieu aux mêmes phénomènes produits par la lysocithine inoculée par la même voie, confirme cette observation: la lécithinase produit en effet les mêmes conséquences soit qu'on la porte directement au sein des tissus nerveux, soit qu'elle y arrive transportée par le sang.

***

Si la supposition que le ferment lécithinasique joue un rôle prépondérant au cours des faits qui produisent les syndrômes de l'empoisonnement à la suite d'une morsure de serpent, est vraie, ce ferment — dont on a jusqu'à aujourd'hui constamment démontré la présence dans le venin des serpents venimeux et aussi des hyménoptères et des scorpions — ne devra pas se trouver dans la sécrétion salivaire des serpents dont la morsure est totalement inoffensive ou ne produit que des phénomènes locaux, mais ne donne pas lieu à la symptomatologie caractéristique de ces poisons qu'il est logique considérer comme dépendante de l'action de la lécithinase sur les tissus du système nerveux central où elle forme de la lysocithine.

Le but de ces expériences a été la recherche de la lécithinase dans la sécrétion salivaire des ophidïens appartenant à des espèces qui sont considérées inoffensives pour l'homme, et, en particulier les suivantes: *Coluber Aesculapii, Zamemis gemonensis; Torbophis vivax; Tropinodotus natrix; Coelopeltis lacertina.* En outre on a aussi étendu la recherche sur la présence éventuelle de la lécithinase dans les glandes productrices du poison du « Trachinus draco » (la grande vive). Pour la détermi-naison du pouvoir toxique « in vivo » et du pouvoir de transformer « in vitro » la lécithine du jaune d'oeuf en lysocithine, chaque glande était broyée avec de la solution physiologique, dans un mortier:l 'emulsion ainsi obtenue était divisée en trois parties, dont deux étaient inoculées à deux animaux (cobayes ou souris qui étaient ensuite tenus en observation pen-

dant 24-48 heures), et la troisième était mêlée avec 10 cc. d'émulsion de jaune d'oeuf au 10% dans de la solution physiologique: ce mélange était maintenu pendant 24 heures à 60°.

Ces recherches ont démontré que les glandes salivaires de *Coelopeltis lacertina* possèdent une action toxique et contiennent le ferment lécithinasique: ce dernier manque, au contraire dans les glandes des autres serpents que nous avons examinés et qui se sont démontrés inoffensifs au cours des expériences « in vivo ».

Il a été demontré que le poison du « Trachinus draco » ne contient pas de la lécithinase: il a aussi été observé, en contradiction avec l'affirmation de Phisalix, que ce venin est inoffensif pour la souris. Mais comme il n'a été possible d'étudier qu'un petit nombre d'exemplaires, nous ne pouvons tirer des conclusions définitives, car la même cause qui a fait disparaître la toxicité des glandes examinées peut aussi avoir détruit, ou bien rendue inactive, la lécithinase qui pouvait être éventuellement présente.

Les recherches sus-décrites nous autorisent à admettre que pour les espèces de serpents qui ont été étudiées, la toxicité de la sécrétion salivaire est toujours accompagnée par la présence de lécithinase dans cette sécrétion, ce qui confirme les affirmations faites au commencement de cette note: c'est-à-dire que la lécithinase du poison des serpents est un facteur d'importance capitale pour le détérminisme du grave syndrome — et surtout des symptomes nerveux — qui se manifeste à la suite d'une morsure de serpent.

Institut Sérothérapique de Milan - Laboratoires de la Direction.

CARBONE D. – **Observations à propos de l'influence du fer sur la coloration du lin dans le rouissage industriel.**

Il y a quelques mois, un établissement bâti depuis peu pour le rouissage industriel du lin par le *bacillus felsineus*, envoyait à ce Laboratoire un échantillon de tiges de lin rouies, qui présentaient une teinte obscure, et nous demandait à expliquer les causes de cet inconvénient et à en indiquer le remède.

Depuis des siècles on croyait généralement que la présence de sels de fer ou de cuivre dans l'eau de la fosse à rouissage était cause des colorations obscures dans la filasse. On aurait naturellement pensé à un mécanisme analogue dans le cas en question, si dans le champ du rouissage industriel on n'était pas influencé par les doutes exprimées depuis environ dix ans, par Kraenzlin (« Faserforschung » 1921) et par Ruschmann

(« Grundlage der Röste », Hirzel, Leipzig, 1923). En réalité ces AA. ont tout simplement constaté que le lin peut se noircir pour d'autres causes, et que l'on peut avoir un lin de belle couleur et facile à blanchir dans l'eau contenant du fer; ce qui pourrait également signifier que les formes dans lesquelles ce métal peut se trouver dans l'eau n'ont pas le même effet sur la couleur de la filasse. Mais un peu à cause de la nouveauté de l'observation, et un peu pour la tendance naturelle à généraliser, quelqu'un est porté maintenant à nier l'action du fer sur la couleur du lin et à négliger le vernissage des parties métallique en contact de l'eau (réservoirs pour l'eau chaud, tuyauteries de conduite et de chauffage, etc.); tendance à laquelle je me suis cependant toujours opposé par rapport à l'industrie du rouissage moyennant le *B. felsineus*.

Devant le problème que l'on m'a proposé à nouveau, je décidai donc de procéder à quelques expériences, et à cet effet je me fis avant tout envoyer du lin égal à celui examiné, mais non roui; celui-ci était très beau et bien sec et d'une couleur normale blanc-jaunâtre.

Cinquante grammes de ce lin, placés dans un cylindre de verre muni d'un dispositif pour le tenir submergé, avec deux litres d'eau à 37° C, et avec 2,5 cmc. d'une belle *préculture* de *B. felsineus*, en moins de trois jours furent parfaitement rouis tout en gardant une teinte assez claire; la couleur sombre du lin roui à la fabrique n'était donc pas causée par le lin lui-même.

Cinq grammes de lin non roui furent alors placés dans une grande éprouvette de verre avec 0,5 cmc. de *préculture* et une quantité d'eau suffisante pour rouir le lin; et encore cinq grammes dans une autre éprouvette avec une égale quantité de *préculture* et d'eau, mais avec l'addition de quelques morceaux de fer non vernis, placés en partie sur le fond, et en partie sur le lin. Après trois jours, à 37° C, le lin était parfaitement roui dans les deux éprouvettes. Cependant, alors que celui sans addition de fer avait toujours gardé sa teinte normale (qui persista aussi à l'essication sans lavage), dans l'éprouvette contenante du fer, depuis le premier jour le lin commença à présenter une teinte verdâtre qui le second jour était intensifiée avec production d'une pellicule superficielle noire-brunâtre, et devint, à la fin, d'un gris plutôt sombre, persistant aussi après l'essication.

Ce lin traité à l'aide de l'acide chloridrique concentré et du ferrocyanure potassique, donnait immédiatement une coloration bleue intense, plus marquée cependant à la surface que sur les filasses; cette réaction manquait par contre entièrement dans le lin non roui et dans celui roui sans fer.

M'étant aussi persuadé que la coloration sombre du lin roui envoyé par l'établissement industriel était causée par le fer, j'ai voulus répéter

sur ce dernier la réaction du prussiate, et de suite j'obtins encore, bien qu'avec une intensité réduite, la réaction du bleu de Prusse.

On avait ainsi démontré que la mauvaise coloration du lin de la fabrique était due au fer: le remède était trouvé sans plus, et je donnai le conseil de pourvoir un meilleur vernissage des parties métalliques du bassin de rouissage, comme d'ailleur on avait fait, avec de bons résultats, dans des installations précédentes pour le rouissage à l'aide du *B. felsineus.*

Me souvenant en outre d'avoir vu du chanvre dont le rouissage était difficile, et qui se teintait en verdâtre du fait d'avoir été placé dans un récipient de cuivre mal étamé, je procédai à un rouissage avec des lamelles de cuivre, parallèlement au rouissage avec les morceaux de fer; après trois jours, à 37° C, le rouissage résulta en effet réduit et le lin présenta une teinte verdâtre assez intense, déjà visible au deuxième jour.

Ce n'est que par de nouvelles recherches que l'on pourra voir la portée pratique générale de ces observations occasionnelles, mais je pense qu'il serait intéressant de les reprendre, spécialement en rapport avec les rouissages industriels à eau chaud.

Institut Sérothérapique de Milan.

MENNONNA G. et LABRUNA F. – **Recherches sur quelques propriétés antigènes du B. d'Eberth variablement tué par la chaleur.**

La morbilité due au typhus, qui, chez l'Armée Italienne, était reduite au 0,2°/°° en 1919, c'est-à-dire lorsqu'on pratiquait la vaccino-prophylaxie à l'aide des idrovaccins trivalents, moyennant trois injections faites à l'intervalle de huit jour entre l'une et l'autre, a monté graduellement jusqu'à atteindre le 5°/°° en 1926, par suite de l'introduction, dans la pratique, d'une injection unique d'un lipovaccin en huile de vaseline, préparé aussi en Italie suivant la méthode de Le Moignic et Pinoy. Sur la base de l'observation épidémiologique (1920-1926) et des recherches de laboratoire (Germino, Bruni, Romby, etc.) on constata que ce vaccin en huile de vaséline n'était pas adapté et á partir de 1927 on employa un lipovaccin nouveau en huile d'arachide.

En 1927 et 1928 ce lipovaccin donna des résultats satisfaisants (Mariotti, Bianchi). Or, puisque dans les dernières années la morbilité par typhus est nouvellement devenue considérable, le problème de la vaccino-prophylaxie est tout à fait d'actualité et l'on tend à s'occupér encore des idrovaccins qu'on avait abandonné.

Suivant le conseil et sous le guide de M. le Prof. Zironi, nous avons étudié, au cours de ces premières recherches, les différentes modalités à suivre pour tuer les bacilles typhiques à l'aide de la chaleur, aussi bien que certaines propriétés antigènes des bacilles mêmes.

Dès les tous premiers debuts de la vaccino-prohpylaxie, plusieurs AA. (Wright, Pfeiffer, Kolle, Eisenberg et Volk, Toos, Kraus et Soakin, Meisser et Shiga, Wassermann, Friedberger et Moreschi, Petterson, De Rossi, Hirschfeld, Sobling, Widal et Sicard, Sokota, Scheller, Leishmann et Harrison, Vincent, Ottolenghi, etc.) se sont occupés de ce problème, en pratiquant des recherches directes ou collatérales, mais avec des résultats qui ne s'accordaient pas complètement.

Pour tuer les bacilles en question nous avons adopté les modalités suivantes:

a) à bain-marie à 56° C pendant 1 heure
b) à » à 65° C » 45 minutes
c) à » à 100 C; » »
d) à sec à 125 C° » 20 »

e) en tube métallique très mince, moyennant un procédé analogue à celui employé par Stassano pour la stérilisation du lait, à 70° C, pendant environ 10″.

f) moyennant des sauts répétés de température, savoir: de 70° C à 2° C, dans des pipettes de Pasteur.

Les modalités *a*) *b*) *c*) *d*) ont été appliquées suivant les règles ordinaires. Pour la modalité *e*) nous nous sommes servis d'un appareil simple, constitué d'un tube mince, en nickel, au parois très légères, ayant la longueur de 74 cm. et la capacité de 0,8 cmc., avec une section de cmq. 0,0108. La partie utile de cet appareil est une spirale se développant dans un plan, et elle est unie avec un tube d'afflux et de reflux. A travers cette partie utile que l'on plonge dans le bain-marie, on fait écouler pendant une minute 5 cmc. de suspension bactérienne relativement épaisse. Le temps qu'une particule emplore pour parcourir 74 cm. est d'environ 10″.

Il faut que le bain-marie dans lequel on plonge la partie utile de cet appareil ait une température de 70° C, afin qu'une suspension de bacilles d'Eberth puisse découler stérile.

L'attraction ou l'adhésion capillaire des parois rechauffées, sur les germes, favorisée par la subtilité de la couche liquide, permet de faire agir rapidement la chaleur sur les germes mêmes.

Ce principe se réalise, en partie, même dans nos expériences (*f*), moyennant les brusques sautes de température, pratiquées sur les suspensions bactériques contenues dans la partie mince des pipettes de Pasteur, à l'extrémité fermée à la lampe; dans ce cas la perturbation que les germes

subissent à cause du brusque passage des températures élevées aux températures prôches au zéro, en favorise la mort dans un temps encore plus court. Il faudra revenir sur cette modalité, employant des appareils stables, qui consentent de donner une plus grande étendue à cette tentative.

Sur les suspensions de bacilles d'Eberth variablement tuées moyennant la chaleur (*a*, *b*, *c*, *d*, *e*) nous avons recherché:

A) la conservation de l'agglutinabilité;

B) le pouvoir agglutinogène dans les cobayes;

C) l'aptitude immunisante dans les cobayes.

A) — La souche de b. d'Eberth, employée pour les expériences a résultée agglutinable jusqu'à 1 : 30.000 avec un sérum ayant un titrage de 1 : 25.000.

Les suspensions bactériques tuées moyennant la chaleur, essayées avec le même sérum, ont montré une agglutinabilité réduite comme suit:

1) suspension traitée à 56° C pendant une heure =1:20.000

2) » » à 65° C » 45 minutes=1:500

3) » » à 100° C » 5 » =1:100

4) » provenant du matériel bactérique desséché et traité à 125° C pendant 20 minutes = 1:2000

5) suspension traitée moyennant un tube métallique trés mince à 70° C pendant environ 10″ = 1:10.000.

B) — Nous avons préparé des idrovaccins simples, moyennant les suspensions bactériques 1-5, dans les doses de 100, 300 ,500 millions de germes pour cmc.

Moyennant les doses susdîtes nous avons inoculé un lot de huit cobayes pour chacun des cinq types de vaccin, en laissant un intervalle d'une semaine entre une inoculation et l'autre.

En général les cobayes de chaque lot ont supporté bien le traitement vaccinal.

Dix jours après la troisième injection nous avons saigné les animaux et nous avons recherché les immuno-agglutinines.

Parmi les cobayes du lot N. 1 nous avons constaté la présence des immuno-agglutinines aux dilutions des sérums 1 : 25 (2 cobayes); 1 : 50 (4 cobayes); 1 : 100 (3 cobayes); 1 : 150 (1 cobaye).

Parmi les animaux du lot N. 2: à 1 : 10 (6 cobayes); à 1 : 25 (2 cobayes).

Parmi les animaux du lot N. 3: à 1 : 10 (3 cobayes). Rien chez les autres.

Parmi les animaux du lot N. 4: à 1 : 25 (2 cobayes); à 1 : 50 (2 cobayes); à 1 : 100 (3 cobayes); à 1 : 150 (1 cobaye).

Parmi les animaux du lot N. 5: à 1 : 50 (1 cobaye; à 1 : 100 (3 cobayes); à 1 : 150 (3 cobayes); à 1 : 200 (1 cobaye).

Dans ce dernier lot nous avons rencontré plus d'immuno-agglutinines que dans les autres.

C) — Après avoir recherché la dose minime léthale de bacilles typhiques pour des cobayes normaux ayant le même poids des animaux traités, nous avons infecté quelques uns des cobayes traités, moyennant le double de la dose minime mortelle, quelques autres moyennant le triple, le quadruple, le quintuple.

L'étude de la bactéricidie dans le péritoine des cobayes nous a décelé une plus grande rapidité de défense de la part des cobayes appartenant aux lots N. 1 et 5.

Les cobayes de tous les lots infectés moyennant le double et le triple de la dose minime léthale ont survécu.

Des cobayes inoculé moyennant le quadruple de la dose minime léthale, seulement ceux qui appartenaient aux lots N. 1 et 5 ont survécu.

Aucun animal n'a survecu successivement à l'inoculation d'un quintuple de la dose minime mortelle. Mais, comme on avait augmenté énormement la quantité des germes — il s'agissait de bien cinq öses normales de bacilles typhiques! — on peut penser que la mort est survenue à cause de la charge excessive d'endotoxines, rapidement mises en liberté par la lyse des germes.

En faisant une comparaison entre l'agglutinabilité des suspensions bactériques et leur pouvoir agglutinogène « in vivo » nous remarquons une certaine proportionnalité.

On constate la présence du pouvoir immunisant même lorsque ces deux propriétés sont très atténuées, mais ce pouvoir est plus prononcé dans les vaccins préparés à 56° C pendant une heure (1) et à l'aide d'un tube métallique très mince. à 70° C, pendant environs 10″ (5), car ces derniers gardent le mieux ces propriétés.

Il parait que le meilleur vaccin d'entre ceux que nous avons essayés est celui que l'on prépare à 70° C, à l'aide du petit tube métallique.

Pour ce qui se rapporte aux modalités employées pour tuer les germes, nous pensons que celle de la veine mince mérite d'être expérimentée; et l'on devrait aussi instituer des recherches sur la perturbation apportée aux germes par les changements brusques et répétés de la température.

Institut Sérothérapique de Milan — Institut de Microbiologie de la R. Université de Milan.

SEPPILLI A. et DENES G. – **Contribution à l'étude de la phase « R » des bactéries. A propos de la différente résistance des deux phases « R » et « S » du B. typhi.**

D'après la littérature qui se rapporte à la dissociation microbienne, on remarque que les différents AA. tombent d'accord sur le fait que l'apparition de la phase « E » est favorisée, si non déterminée, par les conditions défavorables du milieu, et que toute déviation de l'« optimum » cultural se réalisant entre les bornes tolérables avec le développement du germe, va accelerer la transformation de la phase « S » en « R ».

Sur la base de ce fait indiscutable, les AA. tirent, en général, une déduction qui, d'après notre avis, n'est pas justifiée et qui ne concorde point avec nos connaissances actuelles sur la biologie de la phase « R » laquelle devrait être considérée comme l'expression d'une « forme de résistance ». Il nous semble donc que la conclusion de ces AA. ne dérive pas nécessairement de l'observation susdîte, de sorte que nous avons estimé intéressant de la contrôler moyennant l'épreuve expérimentale.

C'est pourquoi nous avons soumis les deux phases dissociées d'une même souche de *B. typhi* à des épreuves de résistance à la chaleur humide, au desséchement et à l'action du phenol. On faisait le contrôle de la pureté des phases en préparant des ensemencement à plat moyennant des suspensions en solution physiologique et en étudiant, au point de vue micro- et macroscopique, les colonies s'étant ainsi développées; cette étude était faite en employant soit les méthodes ordinaires, soit la coloration différentielle de Gram opportunément modifiée par nous (v. notre Note précédente, qui parut en « Diagnostica e tecnica di laboratorio », 1932), soit enfin l'agglutination aspécifique à l'aide de la Tripaflavine à l'1°/°° proposée par MM. Alessandrini et Sabatucci, laquelle repond parfaitement. Les phases dissociées de la sorte présentaient un rapport de pureté qui oscillait entre 95 et 100%.

Sans relater à propos des détails techniques de chaque épreuve, pour lesquels nous renvoyons le lecteur au travail publié « in extenso » dans le « Bollettino dell'Istituto Sieroterapico Milanese » (1932), nous rapportons ici les tableaux des résultats que nous avons obtenus:

1) Resistance à la chaleur humide.

	+ 52°		+ 56°		+ 60°	
	« R »	« S »	« R »	« S »	« R »	« S »
Contrôle	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
Après 10′	+ +	+ +	+ +	+ +	— —	— —
» 20′	+ +	+ +	— —	+ +	— —	— —
» 30′	+ +	+ +	— —	+ +	— —	— —
» 45′	+ +	+ +	— —	+ —	— —	— —
» 60′	— —	+ +	— —	+ —	— —	— —
» 90′	— —	+ —	— —	+ —	——	— —

2) Resistance au dessechement
(dans l'essicateur à C_aCl_2 sur des fils de soie, à l'abri de la lumière).

Phase	« S »	« R »	Phase	« S »	« R »
Après 1h	+ +	+ +	Après 13d	+ +	+ —
» 3h	+ +	+ +	» 14d	+ +	+ —
» 6h	+ +	+ +	» 16d	+ +	+ —
» 12h	+ +	+ +	» 18h	+ +	+ —
» 24h	+ +	+ +	» 20d	+ +	+ —
» 2d	+ +	+ +	» 25d	+ +	+ —
» 3d	+ +	+ +	» 30d	+ +	+ —
» 4d	+ +	+ +	» 35d	+ +	+ —
» 5d	+ +	+ +	» 40d	+ +	+ —
» 6d	+ +	+ +	» 50d	+ +	+ —
» 7d	+ +	— —	» 60d	+ +	— —
» 8d	+ +	+ —	» 70d	+ +	+ —
» 9d	+ +	— —	» 80d	+ +	+ —
» 10d	+ +	+ —	» 90d	+ +	+ —
» 11d	+ +	— —	» 100d	+ +	— —
» 12d	+ +	+ —			

3) Resistance au phenol.

	0,5%		1%		2%		5%	
	« R »	« S »	« R »	« S »	« R »	« S »	« R »	« S »
5′	— —	+ +	— —	— —	— —	— —	— —	— —
15′	— —	+ +	— —	— —	— —	— —	— —	— —
30′	— —	+ +	— —	— —	— —	— —	— —	— —
60′	— —	+ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
3h	— —	+ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —

Des trois séries d'expériences que nous venons de rapporter, l'on peut conclûre que des deux phases extrèmes du *B. typhi*, c'est la phase « S » qui montre une résistance considérablement plus prononcée que celle de la phase « R », vis-à-vis de l'action des agents antibactériques, autant physiques que chimiques, dans la dose bactéricide. Particulièrement pour ce qui se rapporte à l'action de la chaleur humide et du phénol, le détachement est absolument évident.

Après cela, nous avons voulu vérifier si, par contre, le phénomène d'une plus grande « adaptation » de la phase « R » aux doses *sub-bactériostatiques* de phénol se répétait même pour la souche que nous avions expérimentée; en effet, nous avons constaté que:

1) sur agar-phénol à l'1°/₀₀ les suspensions de *B. typhi* en phase « R » donnent lieu au développement de colonies « R » en raison d'environ le 70% des unités bacillaires présentes dans la suspension mère;

2) à la concentration de 1 : 500, sous les mêmes conditions, seulement le 40% environ des individus vont pousser, en donnant toujours lieu au développement de colonies de la même phase « R »;

3) à la concentration de l'1 : 30 le développement s'arrête totalement pour les deux phases;

4) en ensemençant sur agar-phénol 1 : 1000 et 1 : 500 des suspensions de *B. typhi* en phase « S » on constate la production de colonies respectivement en raison du 2% et de l'1% en moyenne; ces colonies sont pourtant typiquement rugueuses, c'est-à-dire évidemment correspondantes aux éléments en phase « R » qui se trouvaient dans la suspension, bien que cette dernière eût été dissociée le mieux possible.

Tout cela démontre que: *si d'un coté la phase « R » se montre, d'une façon évidente, plus susceptible de ressentir l'action des agents antibactériques dans la dose bactéricide, de l'autre côté c'est précisément la phase « R » qui, en des conditions défavorables pour le développement, à cause de la présence de ces même agents à la dose sub-bactériostatiques. s'adapte et se multiplie, tandis que la phase « S » se transforme dans le première ou demeure incapable de se développer.*

Or, si l'on fait abstraction de la tendance qu'on a de considérer la phase « R » comme une « phase de résistance », et on la considére, au contraire, comme *une phase d'adaptation*, on voit qu'il n'y a pas de contradiction entre les deux phénomènes; cette *phase d'adaptation est susceptible d'une plus grande autonomie et, par conséquent, aussi de limites plus larges et plus élastiques par rapport aus conditions indispensables à son développement, mais c'est justement en vue de cela qu'elle est, notamment dans ses premières générations*, (ce qui a été affirmé et démontré pour la phase « O » qui doit être considérée, avec toute vraisemblance, une phase in-

termédiaire entre les phases « E » et « S ») *plus sensible que la phase* « S », *dont elle dérive, à l'action des agents antibactériques, dans la dose bactéricide* (v. à ce propos l'hypothèse que l'un de nous a avancé dans une Note précédemment publiée sur ce sujet, dans la « Rivista di Biologia » 1932).

Institut d'Hygiène de la R. Université de Padoue.

BONANNO A. M. – **L'influence thérapeutique du drainage biliaire pendant le décours de la fièvre typhoide.**

Au cours de recherches expérimentales sur le comportement de l'élimination du b. d'Eberth à travers la bile pendant le cours de la fièvre typhoïde, j'ai constaté une influence bienfaisante par le sondage duodénal accompagné d'une instillation de sulfate de magnésium au 33 %.

Les cas traités montent au nombre de 12 et le traitement pour quelques'uns d'eux, a pu être initié jusque dès les, premiers jours de la maladie. Le nombre des sondages au moyen de la sonde d'Eihnorn n'a pas surpassé le trois: dans quelques cas, avec un seul sondage on obtint la chute de la température, par crise. La bile extraite avant et après l'instillation de sulfate de magnésium résulta d'une quantité variable et on put isoler, dans les différents cas, les différentes espèces de bile auxquelles on donne communément le nom de bile A. B. C. et dont on pratique l'examen cultural et microscopique.

La pratique du sondage duodénal chez les typhiques ne présente pas des difficultés spéciales et au cours des recherches dont il est discours, on n'eut pas à plaindre de graves inconvénients par l'installation du sulfate de magnésium (10-20 cmc.). Même en tenant compte de la variabilité de l'évolution, de la durée et de la gravité de la fièvre typhoïde, dans cinq cas on eut une nette et bienfaisante influence sur le cours et sur la durée de la maladie, successivement au drainage biliaire: dans deux cas on eut une influence médiocre, et dans cinq cas celle-ci se montra tout à fait absente.

Cette influence bienfaisante du drainage biliaire sur le cours de la fièvre typhoïde doit être attribuée à des facteurs divers: avant tout on connaît les altérations qui paraissent dans le foie et dans les voies extra-hépatiques pendant le cours de l'infection typhoïde. En outre, le foie, pour sa spéciale position anatomique et fonctionnelle dans l'organisme, représente ainsi que le rein une voie d'élimination de beaucoup de germes. Pour cela donc, il se trouve exposé à subir l'action dangereuse effectuée « in situ » par l'agent microbien, outre qu'à l'action toxique par l'infection généralisée. Et le foie encore, pour la physionomie spéciale

qu'il prend pendant le cours de l'infection typhoïde (ainsi que le démontrent, l'école de Azzi par plusieurs septicémies experimentales et, d'une façon spécifique, beaucoup d'Auteurs par l'infection typhoïde) devient un véritable dépôt de germes, un marais emprisonneur. (Schlammfag des Auteurs allemands).

Dans de telles conditions l'instillation du sulfate de magnésium au moyen du sondage duodénal, agit non seulement sur les voies extrahépatiques, mais elle provoque aussi une plus grande élimination de bile de la cellule hépatique (action cholagogue du sulfate de magnésium) et au même temps une plus grande élimination de germes, une véritable décharge bactérienne, en améliorant ainsi globalement l'activité de la cellule hépatique. Le fait que la culture de la bile B et C, et parfois seulement de la bile C, résulta positive pour le b. d'Eberth dans le cas où la culture de la bile A et même B avait réussi négative, nous a démontré que l'instillation de sulfate de magnésium provoque vraiment une plus grande élimination de bile, de la cellule hépatique. Que l'instillation de sulfate de magnesium provoque d'une façon véritable une plus grande élimination de bile de la cellule hépatique, nous vient démontré par le fait que la culture de la bile B. et C. et parfois seulement de la bile C. résulta positive pour le b. de Eberth dans les cas, où la culture de la bile A. et même B. avait réussi négative.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de la R.le Université de Turin - Sect. Médicale de l'Hôpital Mauriziano.

BONANNO A. M. – **L'élimination au moyen de la bile du B. de Eberth pendant le cours de la fièvre typhoide.**

Etant à connaissance de l'importance du rôle joué par le foie dans les états infectieux, soit comme organe richement doué d'éléments reticulo-endothélialaux, soit pour son action antitoxique et éliminatoire des germes, j'ai voulu étudier pendant le cours de la fièvre typhoïde, le comportement de l'élimination bactérienne au moyen du drainage biliaire pratiqué par la sonde d'Eihnorn. Le fait que le foie explique une importante fonction pendant le cours d'états septicémiques, a été démontré par de nombreuses recherches pratiquées par l'école de Azzi et sur la base desquelles on a pu démontrer que pendant le cours des infections expérimentales on rencontre dans le foie le plus grand contenu bactérien, contenu bactérien qui persiste même lorsque le sang se montre dépourvu de germes. Ce qui a été confirmé par les recherches de Müller et de Brütt; lesdits Au-

teurs remarquèrent que, même lorsque la bile éliminée ne donne plus lieu au dévéloppement des germes, l'excitation de la fonction hépatique par des infections de substances spéciales provoque parfois une notable élimination de germes.

Cela posé, j'ai voulu étudier, pendant la fièvre typhoïde, l'élimination du B. d'Eberth au moyen de la bile excitée par l'installation de sulfate de magnésium. D'autant plus que le B. d'Eberth démontre une prédilection pour la cellule hépatique, si lon veut juger d'après les altérations que d'habitude il y détermine bien souvent: et même parce que la fièvre typhoïde n'est plus considérée comme une maladie intestinale, mais comme une véritable infection généralisée. Les cas examinés pendant de diverses périodes de la maladie montent à 12 et la recherche bactériologique a été pratiquée sur trois échantillons de bile éliminée et prelevée au moyen de la sonde d'Eihnorn et après une installation de sulfate de magnésium, tandis, qu'une culture préparée moyennant le sang était pratiquée au même temps.

Les résultats des recherches bactériologiques ont été des plus importants puisqu'en tout cas on put cultiver par la bile le B. de Eberth dans les différentes périodes de la maladie: dans quelques cas, même, la recherche résulta positive sur la bile B. et C. ou seulement sur la bile C, lorsque l'hémoculture, pratiquée simultanément, de même que les sérum-diagnostics démeurèrent négatifs. On peut donc attribuer de telles données à la possibilité que le foie a de retenir les germes dont l'élimination peut être provoquée en excitant par le sulfate de magnésium une plus grande sécrétion biliaire.

La culture du B. de Eberth par la bile, sur la base de ces résultats, peut avoir une remarquable importance diagnostique, lorque l'hémoculture résulte négative, pendant le cours de la maladie.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie de la R.le Université de Turin - Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital Maria Vittoria.

FROLA G. – **A propos de la méthode proposée par v. Deinse pour la démonstration du virus tuberculeux filtrant dans le cobaye.**

M. van Deinse vient d'avoir expérimenté récemment dans les Laboratoires de l'Institut Pasteur de Paris, un milieu qui, d'après ses affirmations, servirait rapidement et assurément pour mettre en évidence le virus tuberculeux filtrant.

Il a proposé de préparer des cobayes, à l'aide d'une injection intra-

péritonéale de phospate de calcium précipité, obtenu en mélangeant deux cmc. de phosphate disodique au 5% avec un demi cmc. de chlorure de calcium au 5%.

Le phosphate de calcium se trouvant en contact de la séreuse péritonéale, provoquerait la formation d'un exsudat purulent abondant. Le pus, obtenu de la sorte, constituerait un milieu cultural excellent pour le virus tuberculeux filtrant.

C'est pourquoi, en inoculant au bout d'un ou de deux jours, dix cmc. du filtrat sur bougie d'une culture de b. de la tuberculose des bovidés, souche Vallée, cultivée sur milieu de Sauton, le virus tuberculeux filtrant se développerait vigoureusement dans le pus ayant originé de l'action chémiotactique positive du phosphate de calcium. De cette façon, au bout de deux ou quatre jours seulement, l'on retrouverait constamment dans ce pus et *même dans les ganglions lymphatiques*, une grande quantité de bacilles acido-résistants.

Ces germes seraient toujours réunis en amas et disparaîtraient spontanément au bout de huit jours à partir de l'inoculation du filtrat. Ils ne seraient pas virulents pour le cobaye; en effet, l'animal survit en plein bien-être. Ces germes présentent des caractères qui permetteraient de les différencier nettement des bacilles de Koch classiques, que l'on peut démontrer seulement dix jours après l'inoculation intra-péritonéale, et qui ne se réunissent jamais en amas, mais se multiplient en se répendant, ensuite, dans tout l'organisme.

Si ces expériences de M. Van Deinse pouvaient être confirmées, elles auraient une importance non indifférente, car elles permettraient non seulement d'établir d'une façon bien nette l'existence d'un virus tuberculeux filtrant, mais nous offriraient aussi une méthode simple, rapide et sûre pour la recherche du virus même.

Il serait ainsi démontré que le virus tuberculeux filtrant donne lieu à des germes acido-résistants, ayant des caractères biologiques particuliers que l'on peut bien différencier de ceux qui sont propres au bacille de Koch.

M. Van Deinse a pratiqué, outre les contrôles, seulement quatre épreuves: étant donné l'intérêt de ces recherches j'ai estimé bon d'étendre les expériences de cet Auteur, en considération du fait que, si elles étaient confirmées, on pourrait atteindre le but de déceler rapidement l'existence de l'ultravirus et, dans un certain sens, de le cultiver. J'ai donc pensé d'instituer des expériences pour étudier si le virus filtrant tuberculeux qui — d'après nombre d'Auteurs serait présent dans les crachats bacillifères — se comporte comme celui qu'on obtient de la souche Vallée.

---

(1) VAN DEINSE: *Ann. de l'Inst. Pasteur*, Août, 1931.

J'ai employé, pour mes recherches, dix crachats richement bacillifères. J'en ai filtré cinq sur bougie et cinq moyennant les ultra-filtres de collodion au 5% (1).

Les filtrats et les ultra-filtrats ont été inoculés, à la dose de 10 cmc. dans le péritoine d'autant de cobayes, préparés deux jours avant, à l'aide du phosphate de calcium, suivant la technique de Van Deinse.

Deux à six jours après l'inoculation des filtrats on sacrifia les animaux; chez tous les cobayes l'on constata sur la séreuse péritonéale l'existence de nombreuses tâches blanches, aux dimensions variables, nettement saillantes et ayant une consistance dure. Ces tâches étaient constituées par une masse assez friable, qui résultait de leucocytes et de sphérules de phosphate de calcium. Moyennant les préparés colorés à l'aide de la méthode de Ziehl-Nielsen, je ne suis parvenu, dans aucun cas, à mettre en évidence des formes acido-résistantes, soit dans ces granules de pus, soit dans les ganglions lymphatiques voisins.

Mes résultats démontrent qu'il est impossible de mettre en évidence un virus filtrant, du type humain, moyennant la méthode de van Deinse.

Je dois pourtant rappeler ici que M. Van Deinse, ainsi que la plupart des élèves de M. Calmette, a employé, pour ses expériences, le filtrat d'une culture sur Sauton (pH 7,2) de bacille de la tuberculose des bovidés, souche Vallée, âgée de 4 semaines. Ce matériel, en effet, est jugé par ces AA., comme le plus apte à la démonstration du virus tuberculeux filtrant. Peut-être ce germe va-t-il se comporter d'une façon particulière, probablement à cause de conditions biologiques spéciales, ou d'aptitudes physiques et physico-chimiques « sui generis », telles à permettre une démonstration qu'on ne peut pas obtenir en partant des crachats bacillifères.

Tout récemment M. Petragnani a répété les expériences de M. Van Deinse soit « in vivo », que « in vitro ».

Ayant observé la présence de bacilles acido-résistants typiques du précipité floconneux qui se forme additionnant le chlorure de Ca, et le phosphate de sodium « in vitro », au filtrat obtenu de la culture de la souche Vallée, cet A. pense de pouvoir affirmer que les formes acido-résistantes rencontrées par M. Van Deinse sont l'expression d'une reconstitution chimico-physique due à la réunion de mycelles colloïdales du corps bacillaire dispersées pendant la filtration.

Ces observations qui jetteraient sur le problème de la filtrabilité, une lumière tout à fait nouvelle, méritent d'être contrôlées et confirmées.

---

(1) La technique que j'ai employé a été exposée en détail dans un travail que j'ai publiè en collaboration avec M. le Dr. Prussia, en *Accădemia Medică*, Mars, 1932.

Sans doute, pour le filtrat de crachats bacillifères, même ce phénomène physico-chimique ne s'effectue pas, de sorte que j'estime de pouvoir affirmer qu'employant la méthode proposée par M. Van Deinse il n'est pas possible, dans les conditions dans lesquelles j'ai conduit mon étude, de mettre en évidence un virus tuberculeux filtrant, de type humain.

Institut de Pathologie Générale de la R. Université de Genes.

TERMINE M. – **Autour d'un actinomycète isolé d'une culture de Mycobacterium tuberculosis.**

En 1929, au cours de recherches sur une souche de *Mycobacterium tuberculosis* (variété bovine) isolée de foyers pleuro-pulmonaires d'un chien, M. le Prof. Redaelli observa dans des tubes de Petragnani, ensemencés moyennant un matériel caséeux, un germe à colonies calcineuses qui se développait à la surface des patines tuberculeuses, germe dont les caractères morphologiques et de développement étaient assez différents des patines tuberculeuses mêmes. Les examens ultérieurement faits par frottis démontrèrent que ce germe était constitué de filaments ramifiés, très semblables aux végétations actinomycosiques.

M. Redaelli alors, par des artifices et des techniques spéciaux, parvint à isoler le germe en question qui, par ses caractères culturaux et morphologiques, fut reconnu comme un actinomycétale.

Son étude se montra de suite intéressante pour les raisons suivantes:

1) Dans des tubes de culture fermés avec de la plastiline à la température de 38°, le germe parut tardivement et à côté du bacille de la tuberculose. Ces faits modifiaient en partie l'hypothèse que l'actinomycète pût être un germe banal de souillure.

2) Il parut sur terrein de Petragnani, généralement peu favorable aux microrganismes ordinaires et surtout aux moisissures.

3) Ses rapports apparemment étroits avec le bacille de la tuberculose, qui font penser à d'éventuels rapports de ce même bacille avec des êtres différents et aux problèmes sur la forme saprophytaire du germe spécifique.

Le germe fut transplanté dans les milieux liquides et solides les plus variés, pour en étudier les caractéristiques culturales, morphologiques et biologiques, et aussi dans le but d'en déterminer les rapports éventuels avec la souche spécifique d'où on l'avait isolé.

Les observations systématiques faites depuis le troisième jour, mon-

trèrent un développement dans presque tous les milieux: les plus favorables, cependant, semblèrent le bouillon glucosé et pepto-glucosé pour les liquides; l'agar commun et la pomme de terre pour les solides. Dans les terrains liquides, déjà au troisième jour on notait des masses cotonneuses, d'aspect floconneux, grisâtres, ayant au milieu des colonies plus petites, plus compactes et plus claires.

L'examen microscopique, à goutte pendante, du matériel développé en bouillon glucosé, montrait un développement abondant d'un mycélium irrégulièrement ramifiè, avec de courtes branches terminales et des branches latérales terminées souvent par un renflement en massue. On observait aussi de rares et courtes chaînettes de spore terminales ayant un aspect coccoïde.

Dans les milieux solides, le champignon se développait plus rapidement que dans les liquides et nous démontra en outre des caractères dont quelqu'un pouvait aussi nous orienter dans la direction de quelqu'une parmi les nombreuses espèces d'*Actinomyces*. Ainsi, dans les cultures sur pomme de terre, on put remarquer un enduit finement rugueux, cérébriforme, à bords découpés, d'une couleur blanche-sale poudreuse; ce caractère est très semblable à l'enduit de l'*Actionmyces cromogenus*, avant que ce dernier détermine des pigmentations dans le substratum.

Certaines préparations apprêtées à l'aide de lamelles emplantées dans les pommes de terre suivant la technique des préparations à sec, mirent en évidence des formes filamenteuses et ramifiées avec des branches terminales présentant quelquefois un très léger renflement en massue. Les hyphes décumbentes, aussi bien que les ramifications, ne parurent pas toujours uniformément colorés, mais souvent comme s'ils étaient constitués par autant de segments chromophiles séparés par de très petits traits incolores.

Le germe que j'ai étudié se démontra toujours Gram-positif et non résistant aux acides. L'*optimum* de température pour le développement rapide et vigoureux du champignon est 37°; il se développe également bien à 25°; très tardivement à la température ambiante. Il ne fluidifie pas la gélatine, ne coagule pas le lait, ne fermente pas les hydrates de carbone, ne fluidifie pas le sérum, ne produit pas de modifications pigmentaires dans les substratums, ne s'est pas montré pathogène pour les animaux.

Sur la base de cette étude générale, culturale, morphologique et biologique, je crois pouvoir établir que mon germe appartient au groupe des Actinomycétales, et plus précisément à la famille *Actinomycetaceae Buchanam*, comprenant aussi les groupes *Micromonospora* et *Actinomyces*. Pour la pluralité des spores il est évident que la souche appartient au second des genres susdits.

Dans le but d'établir un diagnostic spécifique du champignon, je me suis orienté en prenant surtout pour base les caractères culturaux. J'ai pu établir que mon espèce se rapproche de l'*Actinomyces albus* (Rossi-Doria) et de l'*Actinomyces cromogenus* que plusieurs AA. ont décrit comme étant très près de l'*Actinomyces albus*. Il diffère des souches purement saprophytes du milieu et de celles de la même espèce nettement parasitaires isolées des lésions bovines comme l'*Actinomyces bovis*.

L'étude surtout biologique du germe fut conduite dans le but de pouvoir établir si de son thalle on pouvait différencier, dans des conditions biologiques spéciales, des formations pouvant être considérées au point de vue morphologique et biologique comme des bacilles acido-résistants. La systématique moderne, du fait d'avoir fixé la position du bacille de la tuberculose parmi les Actinomycétales, l'extrème variabilité morphologique du bacille tuberculeux lui-même, les recherches conduites avec tant d'insistance et la tendance à faire remarquer la forme saprophytique du dit bacille (recherches qui, en général, mettent en évidence sa forme complexe se rapprochant de la structure des vrais Actinomycètes), les rapports enfin entre le bacille de la tuberculose et certaines espèces du *streptotrix* observé par M. Sanfelice, sont des faits qui m'autorisaient tous à tenter l'étude des transformations éventuelles du germe étudié par moi, et ses rapport précis avec le bacille de la tuberculose.

Mais toutes mes recherches ont eu un résultat négatif, parce qu'il m'a été impossible d'établir un rapport génétique spécial entre l'espèce que j'ai étudiée et le *Mycobacterium tuberculosis*.

Une allure biologique particulière qui m'autorise à tenir séparée ma souche de celles de la même espèce absolument saprophytiques de l'ambiant, et de celles surement parasitiques qui vont sous le nom d'*Actinomyces bovis* (M. Puntoni démontra en effet que certaines souches de ce nom ne sont autre chose que des formes pathogènes d'*Actinomyces albus*), me font penser que le champignon étudié par moi ne doit aucunement être considéré comme un germe banal, souillant les cultures de bacille de la tuberculose, mais qu'il devait se trouver associé avec le bacille de la tuberculose dans la lésion spécifique pleuro-pulmonaire du chien.

Institut d'Anatomie Pathologique de l'Université Royale de Catane.

TROSSARELLI L. – **Recherches sur la flore microbienne secondaire dans une épidémie de grippe, développée dans une communauté.**

Sur l'étiologie de la grippe les AA. ont avancé deux hypothèses principales: les uns pensent que la grippe serait due à un schizomycète qu'on vient de rapporter au bac. bien connu de Pfeiffer (surtout en Allemagne). Tantôt on l'a attribué à des germes de la famille des coccacées, tantôt à des éléments microbiens spéciaux (*Bacterium pneumosintes* d'Olitzky et Gates, Journ. Am. Med. Ass. 1920) qui occuperaient une place intermédiaire entre les schizomycètes proprement dits et les virus. Les observations de ces AA. furent ensuite confirmées par Loewe, Zeman, Det weiler, Hodge (Journ. of exp. med., 1924) et Hall (ibidem, 1924), en Amérique; par Gordon en Angleterre, par Lister en Afrique, par Nakajima au Japon. Gater aussi (Journ. of. Bact. 1920) au cours de l'épidémie grippale de 1926, démontra la présence du *B. pneumosintes* chez 9 patients dans les premières 24 herues depuis le développement de la maladie.

D'autres AA. attribuent la grippe à un virus qui produirait dans l'organisme atteint, un état d'anergie *grosso modo* spécifique, qui permettrait à certains groupes d'espèces microbiennes d'avoir facilement raison de l'organisme ainsi affaibli dans la défense immunitaire et serait donc la cause partielle de la symptomatologie pathologique de la grippe.

La plupart des rechercheurs est en faveur de cette dernière hypothèse: les recherches cependant que l'on a fait dans le but d'identifier et d'eucadrer exactement la nature de ce virus sont, jusqu'à présent, négatives.

Dans cet Institut aussi, des studieux se sont occupés, depuis des années, de la question, et si les recherches, publiées ou non, n'ont pas donné de résultat pour ce qui se rapporte à l'identification de l'hypothétique virus filtrant, elles furent néanmoins utiles à l'argument dans le sens que du moins la flore secondaire microbienne de la grippe fut étudiée.

Je suis d'avis que dans toute épidémie il est toujours intéressant d'ètudier la flore microbienne dominante dans le foyer morbide; c'est pourquoi je considère utìle de parler ici rapidement, de quelques unes de mes recherches pratiquées chez des membres d'une communauté dans laquelle une grave forme grippale se développa tout à coup, d'une manière épidémique. Il s'agissait de femmes de l'âge entre 20 et 30 ans: malgré la forme sérieuse, elles guérirent toutes en peu de jours (5 à 8 jours).

Toutes les patientes, au nombre de 20, furent examinées dans les 24 heures à partir du développement de l'infection.

Comme traitement, j'invitais les malades à se rincer la bouche et à se gargariser avec le liquide de Ringer, glucosé, à l'1%, stérile.

Ensuite, à l'aide d'une anse de platine, je cueillais le matériel du palais mou et des anfractuosités des amygdales, matériel que j'ensemençais dans de différents milieux de culture et dans des conditions aussi bien d'aérobiose que d'anérobiose (agar-sang, agar-ascite, milieu au bouillon de foie, suivant Tarozzi-Nogouchi). J'isolais ensuite les différente souches des colonies s'étant développées dans les différents terreins et je procédais en outre à l'identification de tous les caractères dans le but d'en déterminer, dans la limite du possible, l'espèce.

Les examens répétés et soigneusement conduits, donnèrent comme germe nettement prédominant: dans un cas le bactérium de Pfeiffer, dans un autre une souche de *staphylococcus pyogenes aureus*, dans un autre cas l'*enterococcus* ,dans un autre un b. pseudodiphtérique, dans un autre encore une souche de *sarcina aurantiaca*, et enfin dans deux autres cas une flore mélangée banale où il me fut impossible de distinguer un germe dominant. Dans 13 cas j'isolais une souche microbienne spéciale. Il s'agissait d'un diplocoque de très petites dimensions, Gram-positif, qui se développait peu ou pas de tout en agar commun, alors qu'il poussait assez bien en agar-sang; il se développait dans du bouillon, produisant une opacité diffuse, avec peu de sédiment au fond; il n'acidifiait ni coagulait le lait; résistait à la bile; ne fluidifiait pas la gélatine, produisait un acide avec les hydrates de carbone suivants: maltose, lévulose, glucose, lactose et mannite. Il n'était pas pathogène pour la souris; injecté dans l'articulation du genou du lapin (épreuve de Dreyer) il provoquée une artrite purulente.

J'ai presque toujours isolé ce germe eh culture pure, excepté dans un cas où il était associé au *bacterium pfeifferi*, et dans un autre où il était associé à un b. pseudodiphtérique. Deux semaines environ après le début de la maladie, on constata dans le sang de quatre malades, la présence d'agglutinines spécifiques pour le germe en question.

Il s'agit évidemment d'un germe de sortie, comme tous ceux que les AA. ont étudiés.

Si je mets en rapport ces recherches avec celles que d'autres investigateurs ont pratiquées dans ce même Institut, il s'ensuivrait que la flore microbienne constituant les germes de sortie de la grippe, varie de foyer à foyer épidémique: il serait donc utile de coordonner les contributions des différents AA. qui se sont occupés de l'argument, afin de pouvoir ainsi établir leur signification étiologique dans les rapports de la grippe.

Institut de bactériologie et immunologie de la R. Université de Turin.

Errata-corrige – Fasc. IV, pag. 130 – Mori Nello - *Ma méthode de coloration très rapide, à froid, du bacille tuberculeux.* « En *1931* je proposai »... *Lire* « En *1913* je proposai »...

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.